

**KINETIK UND ANTIGENIZITÄT VON
XENOGENEM ANTILYMPHOZYTENGLOBULIN
UND NORMALGLOBULIN**

Roman Alexander Zink

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551924_0096

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung

(Prof.Dr.Dr.h.c.W.Brendel)

M ü n c h e n

KINETIK UND ANTIGENIZITÄT
VON XENOGENEM ANTILYMPHOZYTENGLOBULIN
UND NORMALGLOBULIN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
verfaßt und der medizinischen Fakultät der
Ludwig Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Roman Alexander Z i n k
aus München

München 1974



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
München

Berichterstatter : Professor Dr.Dr.hc. W. Brendel

Dekan : Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 11.6.1974

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet.

	<u>Seite</u>
A. EINLEITUNG	1
Abkürzungen	2
B. MATERIAL und METHODE	3
I. Versuchstiere	3
II. Seren	3
1. Herstellung des ALG	
2. Herstellung des NPG	
3. In vitro Testung von ALG und NPG	
4. In vivo Testung von ALG und NPG	
III. Markierung der g-Globuline	6
1. Technik	
2. Zeitpunkt der Markierung	
IV. Untersuchungen und Messungen	7
1. Blutbildveränderungen	
2. Histologische Untersuchungen	
3. Sensibilisierungsgrad der Hunde	
4. Immunchemische Quantifizierung	
5. Isotopentechnische Quantifizierung	
V. Berechnungen	8
1. Blutbild	
2. Sensibilisierungsgrad	
3. Immunchemische Quantifizierung	
4. Isotopentechnische Quantifizierung	
5. Statistische Berechnungen	
VI. Gruppeneinteilung	17
1. nach Art des verwendeten g-Globulins	
2. nach dem Zeitpunkt der Organentnahme	
3. nach dem Zeitpunkt der Tagesprofile	
VII. Zeitablauf und Dosierung	18
1. Blutabnahme	
2. g-Globulin-Gabe	
3. Tagesprofile	
4. Organentnahmen	
5. Messungen	

	<u>Seite</u>
C. ERGEBNISSE	22
I. In vitro Untersuchungen der g-Globuline	22
1. Tests	
2. Markierung	
II. In vivo Untersuchungen der g-Globuline	23
1. Immunsuppressive Wirkung	
2. Blutbildveränderungen	
3. Histologische Veränderungen	
4. Sensibilisierungsgrad der Hunde	
III. Wiederauffinden der g-Globulin-Reste	29
1. Immunchemische Quantifizierung	
2. Isotopentechnische Quantifizierung	
a. Blutspiegel	
b. Gewebskonzentrationen	
c. Tagesprofile	
D. DISKUSSION	45
1. ALG - NPG: Herstellung und Eigenschaften	
2. Veränderungen an lymphatischen Zellen und Granulozyten	
3. Sensibilisierung der Hunde	
4. Verlauf der Proteinspiegel	
5. Anwendung von ALG in der Klinik	
E. ZUSAMMENFASSUNG	61
F. LITERATURVERZEICHNIS	62
G. ANHANG	74

Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

<u>Tabellen</u>	<u>Seite</u>
1. Granulozytenverlauf	25
2. Lymphozytenverlauf	25
3. Sensibilisierung der Hunde	28
4. ALG- und NPG-Konzentrationen im Blut	31
5. ALG- und NPG-Konzentrationen im Blut	33
6. relative ALG- und NPG-Konzentrationen im Blut	38
7. ALG- und NPG-Konzentrationen im Gewebe	40
8. Tagesprofile der Blutkonzentrationen	43

<u>Abbildungen</u>	<u>Seite</u>
1. Granulozyten- und Lymphozytenverlauf	23
2. Sensibilisierung der Hunde	29
3. ALG- und NPG-Konzentrationen im Blut	30
4. ALG- und NPG-Konzentrationen im Blut	34
5. ALG- und NPG-Konzentrationen im Blut	35
6. relative ALG- und NPG-Konzentrationen im Blut	36
7. ALG- und NPG-Konzentrationen im Gewebe	42
8. Tagesprofile der Blutkonzentrationen	44

A. EINLEITUNG

Immunsuppressive Maßnahmen spielen in der modernen Medizin bei der Therapie zahlreicher Erkrankungen eine immer bedeutendere Rolle.

Neben der pharmakologischen Beeinflussung der Immunantwort finden derzeit immunologische Methoden einen sich ausweitenden Indikationsbereich. Versuche, durch Antiseren gezielt gegen einzelne, immunologisch kompetente Zellsysteme vorzugehen, lassen sich bis ins Ende des letzten Jahrhunderts zurückverfolgen (78). Die Effizienz derartiger Antiseren, z.B. des ALG, konnte bis heute erheblich gesteigert werden. Dennoch liegt die Komplikationsrate durch die unerwünschten Nebenwirkungen dabei immer noch so hoch, daß eine ALG-Therapie für den Patienten ein nicht unerhebliches Risiko darstellt.

Um jedoch den Anwendungsbereich erweitern und iatrogene Schädigungen vermeiden zu können, ist es unerläßlich, genaue Kenntnisse über Metabolismus, Verteilung und Eliminationsverhalten der Substanz zu haben.

Wie sich bei wiederholten Gaben gleicher Dosen von ALG die Gewebs- und Blutkonzentration beim Hund verhalten, sollte im Rahmen dieser Untersuchungen festgestellt werden.

Im Vergleich hierzu wurden die selben Parameter an einem mit unspezifischem NPG behandelten Kontrollkollektiv überprüft.

A B K Ü R Z U N G E N

AG	Antigen
AK	Antikörper
ALS	Antililymphozytenserum
ALG	Antilymphozyten - - Globulin
b - Globulin	β - Globulin
B - Zellen	kurzlebige Lymphozyten ("bursa dependend")
d	Titerstufen = log 2
g - Globulin	γ - Globulin
"E"	s.S. 39
I ¹³¹	radioaktives Jod
KG	Körpergewicht in kg
NPG	Normal-Pferde - - Globulin
p	Signifikanzkoeffizient
PHA	Phyto-Hämagglutinin
"R"	s.S. 39
RHS	Retikulo-histiozytäres System
s	Standardabweichung
s $\bar{x}$	Standardabweichung des Mittelwertes
T - Zellen	langlebige Lymphozyten ("thymus dependend")
t/2	Halbwertszeit
$\bar{x}$	Mittelwert

(s.S. 10)

B. MATERIAL UND METHODIK

I. Versuchstiere und Medikation

Die vorliegenden Versuche wurden an Bastardhunden beiderlei Geschlechts durchgeführt. Das Körpergewicht der Tiere betrug am Versuchsbeginn im Mittel $16,8 \text{ kg} \pm 5,1 \text{ kg}$ (NPG-Gruppe $15,7 \text{ kg}$ und ALG-Gruppe $17,9 \text{ kg}$).

Wasser und Fleisch-Nudel-Nahrung stand nach Belieben zur Verfügung, wurde aber während der Therapiezeit erst nach den Injektionen angeboten.

Während der gesamten Versuchsdauer erhielten die Tiere zur Infektionsprophylaxe täglich peroral $0,5 \text{ g}$ Ampicillin (Amblo-sin Hoechst).

Etwa 10 Tage vor Versuchsbeginn bekamen die Tiere 2 ml Staupe-Vaccine i.m. injiziert und standen von diesem Zeitpunkt an unter Beobachtung.

24 Stunden vor der ersten NPG- bzw. ALG-Dosis wurden $0,4 \text{ g}$ Hexamethyldiaminoisopropanoldijodid als 20% ige wässrige Lösung - $0,236 \text{ g}$ Jod entsprechend* - i.v. appliziert. Hiermit sollte die Schilddrüse abgeblockt werden.

II. Seren

1. Herstellung des Antilymphozytengammaglobulins

In der von PICHLMAYR (87, 88) angegebenen Weise wurde bei Hunden eine Ductus thoracicus-Drainage angelegt und die Lymphe in 4°C kalter heparinisierten Hank'scher Lösung aufgefangen.

* (Endojodin, Bayer - Leverkusen)

Die Zellen wurden bei einer Umdrehungszahl, der 100 g entsprechen, 20 Min. lang zentrifugiert, resuspendiert und erneut sedimentiert. Dieser Vorgang wurde zweimal wiederholt und die Zellen bis zur Immunisierung im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt (87, 88).

Es stand ein während 7 Monaten mit $16 \times 4,6 \times 10^9$ Lymphozyten grundimmunisiertes Pferd zur Verfügung, das schon über längere Zeit antilymphozytäre Serumtiter zwischen 1 : 2048 und 1 : 4096 aufwies. Ihm wurden zur Boosterung während eines Zeitraums von 6 Wochen 3 mal durchschnittlich 3×10^9 in oben beschriebener Weise gewonnene Lymphozyten intravenös verabreicht. 4 Wochen nach der letzten Lymphozytengabe wurden dem Pferd 3 mal 4 Liter Blut durch Venenpunktion abgenommen und das Serum nach 24 Stunden dekantiert.

Um die bei der Immunisierung ebenfalls entstandenen Antikörper zu eliminieren, die gegen Hundeeerythrozyten gerichtet sind, war das inaktivierte Serum zweimal mit gewaschenen roten Hundebutkörperchen im Verhältnis 1 : 1 zu absorbieren. Als Kriterium für die gelungene Absorption galt hierbei das Fehlen einer Agglutination von Hundeeerythrozyten bei mikroskopischer Betrachtung (87, 88).

Das absorbierte Serum wurde anschließend nach der von DIETZEL (27) angegebenen Methode fraktioniert. Gesättigte Ammoniumsulfatlösung wurde hierbei dem Serum zugesetzt, bis das Gesamtvolumen einen Sättigungsgrad von 45 % Ammoniumsulfat erreichte. Dies veränderte die Ionenstärke des Systems derart, daß die Löslichkeit der Globuline erheblich abnahm. Der g-Globulin-Anteil fiel als Ganzer aus, die b-Globuline zum Teil. Der Niederschlag wurde durch Dialyse vom restlichen Ammoniumsulfat befreit und die gewünschte Proteinkonzentration eingestellt. Unmittelbar nach der Fraktionierung war das Globulin stufenweise bis 0,2 um sterilzufiltrieren* und zu ampullieren.

* Zellulosenitratfilter, Fa. Sartorius, Göttingen

2. Herstellung des Normalpferde - g - Globulins

Es wurde zunächst aus dem Blut eines unbehandelten Pferdes die entsprechende Menge Serum gewonnen und dann in der oben beschriebenen Weise fraktioniert, sterilfiltriert und ampuliert. Dieses g-Globulin kam bei den Hunden Nr. 9, 10, 11 und 12 zur Anwendung.

Bei den Hunden Nr. 4 und 7 wurde das im Handel befindliche Pferde-g-Globulin der Behring Werke AG (Marburg) benutzt. Letzteres wird durch Säulenchromatographie hergestellt.

3. In vitro-Testung der verwendeten g-Globuline

a. Eiweißbestimmungen: Zur Überprüfung des aktuellen Proteingehaltes wurden Papierelektrophoresen nach GRASSMANN und HANNIG (43) angefertigt sowie der Gesamteiweißgehalt mit der Biuret-Methode nach WEICHSELBAUM (118) bestimmt*.

b. Bestimmung der Lymphotoxizität:

Nach KABAT und MAYER (63) wurde hierzu eine Lymphozytensuspension mit dem zu testenden Antiserum bzw. der Verdünnungsreihe für 30 Min. im Verhältnis 1 : 1 inkubiert. Nun wurde dieselbe Menge frischen Kaninchenserums zugegeben, das Ganze mit 1 %iger Trypanblaulösung versetzt und nochmals bei 37 °C für 30 Min. inkubiert.

Die so behandelten Zellen wurden dann mikroskopisch auf ihre Anfärbbarkeit hin untersucht. Blaufärbung erfolgt nur bei geschädigten Zellen. Die Kontrollsuspension bestand aus Lymphozyten, Hank'scher Lösung und Kaninchenserum.

4. In vivo-Testung des verwendeten ALG

Von einer anderen Arbeitsgruppe wurde das ALG der gleichen

* Eiweißpack, Fa. Asal, Schwalbach

Charge u.a. zur Monotherapie isogen transplanterter Hundenieren herangezogen. Als wesentliches Kriterium für die Beurteilung der immunologischen Potenz dieses ALG's diente die hierbei erzielte Verlängerung des Zeitraumes bis zur Transplantatabstoßung (83, 102).

III. Markierung der g-Globuline mit dem Isotop I^{131}

1. Technik

Im Wesentlichen geht die Markierungstechnik auf die Angaben von FRANKS et al. (36) zurück. ZAPPACOSTA und ROSSI haben sie überprüft und bestätigt (122).

Radioaktives I^{131} ($t/2$ 8,04 d) (40) wurde als Natriumjodid* in einer Natriumthiosulfat-haltigen Lösung von pH 8 - 10, einer spezifischen Aktivität von 5 - 20 Ci I^{131} /mg I und einer Konzentration von 1 mCi I^{131} /ml, mit 1 n HCl angesäuert, erhitzt. Nach Pufferung mit Natriumjodid-Na-jodat-Puffer wurde schließlich durch Disproportionierung atomares I^{131} frei, das sofort mit dem vorbereiteten Protein-Glycin-Puffergemisch bei 4 °C reagierte: d.h., hochaktive Jodatome brechen die Doppelbindungen in 3:5 Stellung an Tyrosinringen auf und lagern sich dort an.

Das so mit Jod beladene ALG bzw. NPG wurde von freiem, nicht an g-Globulin fixiertem Jod in einer Sephadexsäule (Sephadex G 25) gereinigt.

2. Zeitpunkt der Markierung

Um einen entsprechend hohen Aktivitätsspiegel zu erhalten, wurde in der Regel für die erste, fünfte und neunte Injektion neu markiertes Protein verwendet.

* Natriumjodid: Fa Buchler, Braunschweig

IV. Untersuchungen und Messungen

1. Blutbildveränderungen

Entsprechend den gebräuchlichen Labormethoden wurde die Leukozytenzahl des Venenblutes in der Neubauer-Kammer bestimmt und die prozentualen Anteile von Granulo- bzw. Lymphozyten in den Blutausstrichen gezählt.

2. Histologische Untersuchungen

Zur Überprüfung der Wirkung insbesondere des ALG's wurden am Pathologischen Institut der Universität München* der lichtmikroskopische Befund an Lunge, Leber, Milz, Niere, Hilus- und Mesenteriallymphknoten erhoben.

3. Sensibilisierungsgrad der Hunde gegen Pferdeprotein

Inwieweit eine Sensibilisierung der Versuchstiere durch die wiederholten Gaben des xenogenen ALG bzw. NPG erfolgte, konnte mit Hilfe der aktiven Hämagglutination untersucht werden.

Die Ausführung erfolgte nach der von KABAT und MAYER (63) angegebenen Methode. Frisch gewaschene, aus Zitratblut gewonnene Pferdeerythrozyten wurden als Suspension mit den Verdünnungsreihen der zu untersuchenden Hundeseren in Glasröhrchen vermischt und 30 Min. bei 37 °C inkubiert. Die Agglutination konnte im Anschluß daran makroskopisch abgelesen werden.

4. Immunchemische Quantifizierung des Pferde-g-Globulins

Nach der von MANCINI (77) beschriebenen Methode kann durch das Ausmaß der Radialdiffusion die in einem Serum befindliche Konzentration an Fremdprotein berechnet werden (76).

* Herrn Dr. K. Pielsticker danke ich für die Anfertigung und Auswertung der histologischen Präparate.

Hierzu wurden Glasplatten mit einem Gemisch aus Agar und Kaninchen-Anti-Pferde-NPG bzw. -ALG gleichmäßig beschichtet. Die Antiseren stammten aus eigener Herstellung. In gleichgroße Stanzlöcher wurden die Testseren eingebracht und für 24 Stunden in einer feuchten Kammer der Diffusion überlassen. Nach dem Trocknen und Färben mit Lichtgrün konnten die Durchmesser der Präzipitationsringe bestimmt werden. Mit Hilfe von NPG- bzw. ALG-Lösungen bekannter Konzentration ließen sich die Ergebnisse quantifizieren. Die Standardverdünnungen betrugen 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30 und 1:40.

5. Isotopentechnische Quantifizierung des Pferde-g-Globulins

Hierzu wurden jeweils 24 Stunden nach der letzten g-Globulin-Gabe bzw. der letzten Bestimmung in einem Milliliter venösen Vollblutes die Anzahl der radioaktiven Zerfälle pro Minute gemessen (cpm/min). Die Proben befanden sich in genormten Kunststoffbehältern gleicher Ausführung. Als Gamma-Szintillations-Spektrometer stand ein Gerät der Firma Packard (Modell 5375) zur Verfügung. Als "Standard" wurde täglich ferner die Aktivität pro Milliliter der jeweils verwendeten ALG- bzw. NPG-Suspension bestimmt.

Nachdem die Tiere getötet wurden, konnte die Aktivität in 15 verschiedenen Organen gemessen werden. Als Einheit wurden hierbei Counts pro Gramm Frischgewicht zugrundegelegt. Während der Tagesprofile wurden die Tiere mit einem Benzodiazepin-Derivat* sediert.

V. Berechnungen

1. Blutbild

Die Gesamtzahl pro mm^3 der Lympho- bzw. Granulozyten wurde in

* Valium, Hoffmann - La Roche

der üblichen Weise aus ihrer prozentualen Verteilung im Differentialblutbild und der Gesamt-Leukozytenzahl ermittelt. Um die Verläufe jener beiden Zellpopulationen aufzuzeigen, wurden die jeweiligen Gesamtzahlen am Tag n in Prozent des Wertes angegeben, der aus einer Doppelbestimmung am 1. Versuchstag vor der 1. Injektion ermittelt wurde.

2. Sensibilisierungsgrad durch Pferdeprotein

Für die Berechnung der mittleren Titerstufen innerhalb der Gruppen wurde auf ganze Zahlen gerundet und der Exponent (d) zur Basis 2 herangezogen ($\text{Titer} = 2^d$; Titerstufe = d).

3. Immunchemische Quantifizierung des Pferde-g-Globulins

Die Durchmesser der nach der Methode von MANCINI (77) gefundenen Diffusionsringe für die Standardlösungen und die dazugehörigen Proteinkonzentrationen werden in ein Koordinatensystem eingetragen (Abszisse: Durchmesser in mm; Ordinate: Konzentration in g pro 100 ml Lösung). Die Verbindungslinien dieser Punkte ergeben bei geeigneter Wahl der Kontrollverdünnungen einen annähernd exponential verlaufenden Streckenzug. An diesem können, mit Ausnahme seines steilen Anteils, die Eiweißkonzentrationen abgelesen werden, die dem Diffusionsring-Durchmesser eines Testserums entsprechen. Von allen Seren wurden Doppelbestimmungen ausgeführt und die Ergebnisse gemittelt. Die Werte sind letztlich noch auf Milligramm pro Liter Vollblut zu korrigieren (Umrechnungsfaktor von Plasma auf Vollblut etwa 1,81).

4. Isotopentechnische Quantifizierung

a. Abkürzungen

Hier sind nur die im Zusammenhang mit den folgenden Berechnungen stehenden Abkürzungen aufgeführt (siehe Seite 2).

In Kombination mit dem Index stehen als Großbuchstaben:

A für Aktivität des Isotops I^{131}

P für Proteinkonzentration von ALG bzw. NPG.

In Kombination mit Großbuchstaben stehen als Index:

t für: theoretisch; beschreibt den Fall so, als ob es für die betreffende Größe keinerlei biologischen Verlust gäbe. (In A_t ist der physikalische Zerfall berücksichtigt).

g für: gemessen, in Verbindung mit Aktivitäten Counts pro Minute; in Verbindung mit Protein aus A_g errechnete Konzentrationen.

r für: Rest; entspricht "g" nach Korrektur von Körpergewicht, Zeitpunkt der Neumarkierung sowie dem physikalischen Zerfall des Isotops.

% für: prozentualer Anteil des jeweils definierten Bezugspunktes.

r/t für: relativ zum theoretischen; gibt die Konzentration des Restproteins am Tag n in % der an diesem Tag zu erwartenden theoretischen Proteinkonzentration an.

Einzelnen stehen:

G(n) für: Gesamtfunktion am Tag n; das am Tag n sich im Hund befindliche Gesamtprotein bzw. die sich im Hund befindliche Gesamtaktivität. Der Aktivitätsverlust durch den physikalischen Zerfall ist korrigiert.

f(n) für: Einzelfunktion am Tag n; die am Tag n injizierte Menge Protein bzw. Aktivität. Der physikalische Zerfall seit der Markierung ist korrigiert.

F(n) für: f(n), wenn an diesem Tag n neu markiert wird.

KG für: Körpergewicht in kg

m für: die Anzahl der Tage seit der letzten Neumarkierung

n für: die Anzahl der Tage, beginnend mit der 1. Injektion

t/2 für: Halbwertszeit

0,9174 Faktor, um den sich die Aktivität von I^{131} innerhalb von 24 Stunden verringert (40).

b. Voraussetzungen

Der nun zu besprechenden Methode seien einige theoretische Forderungen vorausgestellt, die für das Weitere von grundlegender Bedeutung sind. Sie werden an anderer Stelle eingehend erörtert:

- aa. Spiegeln die bei der Messung der radioaktiven Zerfälle gewonnenen Ergebnisse das Verhalten des zu beobachtenden Proteins wider (s.S. 15)?
- bb. Wird das zu beobachtende Protein in seinen biologischen und physikalischen Größen durch die Markierung nur so unwesentlich verändert, daß es das Verhalten eines nicht markierten Proteins zu repräsentieren vermag (s.S. 54)?
- cc. Besteht eine Proportionalität zwischen der Dosis eines radioaktiv markierten Proteins, die einem Versuchstier appliziert wird, und der Konzentration dieser Substanz, die später im Blut gefunden wird (s.S. 13)?

Hier seien alle drei Fragen positiv beantwortet und den folgenden Berechnungen zugrundegelegt.

c. nicht zu vermeidende Störgrößen

Durch den Versuchsaufbau bedingte Uneinheitlichkeiten innerhalb der Gruppen sind bei den Berechnungen zu berücksichtigen.

- aa. Tiere unterschiedlichen Körpergewichtes erhielten unterschiedliche Aktivitäts- bzw. Proteinmengen, da pro Kilogramm Körpergewicht dosiert wurde.
- bb. Aus Gründen der Versuchsdurchführung konnten die Intervalle zwischen den verschiedenen Neumarkierungen nicht immer gleich gehalten werden.
- cc. Da die Dosierung des Proteins pro Kilogramm Körpergewicht in allen Fällen konstant bleiben sollte, aber eine immer gleich starke Markierung des Proteins nicht möglich war, erhielten Tiere verschiedener Untergruppen Markierungschargen unterschiedlicher Konzentrationen des Isotops. Die Proteinkonzentration war dabei gleich.
- dd. Es bleibt zu berücksichtigen, daß die Aktivität der mar-

kierten Proteinsuspension bei konstantem Proteingehalt, entsprechend dem Zerfallsgesetz und der Halbwertszeit für I^{131} folgend, kontinuierlich abnimmt. Dies gilt für in vitro Versuche und

ee. innerhalb des Tieres.

d. Einzelgrößen

aa. $A_t = G(n)$:
=====

Die theoretische Aktivität (A_t) am Tag n bzw. dessen Gesamtfunktion ($G(n)$) ist gleich dem um den radioaktiven Zerfall von 24 Stunden verringerten Aktivitätsrest vom Vortag plus der Dosis markierten Proteins ($f(n)$), die das Tier am Tag n erhält.

Im "Aktivitätsrest des Vortages" sind gleichzeitig die Aktivitätsreste aller früheren Tage aufsummiert:

$$\text{oder } \sum_{i=1}^{n-1} G(i)$$

$$A_t = G(n) = 0,9174 \times G(n-1) + f(n) \quad (\text{cpm pro Hund})$$

Am Tag 1 ist: $A_t = G(1) = f(1) = \text{cpm der 1. Injektion.}$

Für $f(n)$ gilt: (cpm der Injektionslösung)

am Tag der 1. Neumarkierung	ist $f(n) = F_1(n)$
am m -ten Tag nach der 1. Neumarkierung	ist $f(n) = F_1(n) \times 0,9174^m$
dies gilt bis zur 2. Neumarkierung, dann	ist $f(n) = F_2(n)$
am m -ten Tag nach der 2. Neumarkierung	ist $f(n) = F_2(n) \times 0,9174^m$
usw.	

bb. P_t :
===

Die am Tag n sich theoretisch in einem Versuchstier befindliche Proteinmenge:

$$P_t = KG \times P_{kg}$$

(mg pro Hund)

cc. A_g ;
= $\underline{\underline{r}}$ =

Die Anzahl der Counts pro Minute, die in einem Milliliter Vollblut gemessen wurde.

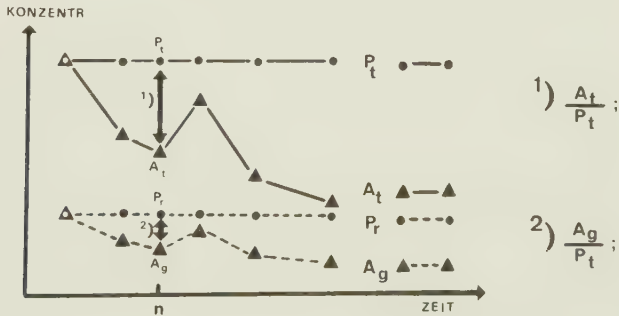
dd. P_r ;
= $\underline{\underline{r}}$ =

Als Voraussetzungen sind angenommen:

aaa. Zu jeder Zeit während des Versuches entspricht einer gewissen Anzahl von Counts pro Minute eine bestimmte Menge Protein.

bbb. Die Gesamtmengen von I^{131} (A_t) sowie von Protein (P_t), die sich am Tag n theoretisch im Versuchstier befinden müßten, sind proportional den im Blut gefundenen Konzentrationen A_g bzw. der daraus errechneten Rest-proteinkonzentration P_r .

ccc. Folglich gilt:



$$\frac{A_t}{P_t} = \frac{A_g}{P_r} ; \quad \text{oder} \quad P_r = \frac{A_g \times P_t}{A_t} ;$$

Soll die Proteinkonzentration in Milligramm pro Liter Vollblut angegeben werden, so ist anzunehmen:

$$P_r = \frac{1000 \times P_t \times A_g}{A_t}$$

ee. $P_{r/t}$:

Diese Größe gibt an, wie viele Prozent der für den Tag n angenommenen theoretischen Proteinkonzentration P_t durch den errechneten Wert P_r wiedergefunden wurden.

$$P_{r/t} = P_r \times \frac{100}{P_t} ; \text{ da aber}$$

$$P_r = \frac{A_g \times P_t \times 1000}{A_t} \quad \text{ist, gilt:}$$

$$P_{r/t} = \frac{A_g \times 10^5}{A_t}$$

f. Zusammenfassende Diskussion der Korrekturen

aa. Körpergewicht

Die applizierten Aktivitäts- bzw. Proteinkonzentrationen sind in A_t bzw. P_t jeweils auf das Gesamtgewicht des Versuchstieres bezogen. Von allen möglichen Verteilungsräumen für diese Substanzen werden immer nur Veränderungen innerhalb des Kompartiments Blut erfaßt (die Messung der Gewebkonzentrationen ist an anderer Stelle zu besprechen). Da das Blutvolumen beim Hund mit 7 - 8 % des Körpergewichtes einen sehr konstanten Parameter darstellt, können die unterschiedlichen Körpergewichte als hinreichend kompensiert gelten.

bb. Markierungsintervalle

Unterschiedliche Markierungsintervalle werden dadurch aufgehoben, daß z.B. die Funktion $f(n) = F_1(n) \times 0,9174^m$ immer nur um "m" Tage bis zum Zeitpunkt der Neumarkierung, in diesem Fall also bis zur Funktion $F_2(n)$ läuft.

cc. Chargendifferente Markierungen

Dieser Faktor korrigiert sich von selbst wegen der geltenden Proportionalität von $A_t : A_g$ und der Konstanz der Abhängigkeit der Blutvolumina von den entsprechenden Körpergewichten. Eine Dosis hochmarkierten Proteins wird daher nach einer definierten Zeit (z.B. 24 h) einen entsprechend hohen Blutwert ergeben. Ist das gleiche Protein mit einer nur geringen Menge von I^{131} beladen, so wird der korrespondierende Meßpunkt entsprechend tiefer liegen.

dd. Physikalische Aktivitätsabnahme in vitro

Sie korrigiert sich bei der Berechnung von A_t , indem als Tagesdosis $f(n)$ nur die für den jeweiligen Tag m geltende Anzahl der Counts pro Minute - das ist der Tagesstandard der injizierten Substanz - eingesetzt wurde:

$$(f(n) = F(n) \times 0,9174^m)$$

ee. Physikalische Aktivitätsabnahme in vivo

Bei der Ermittlung der Gesamtfunktion $G(n) = A_t$ ergibt sich ferner die Korrektur des Aktivitätsverlustes der Restaktivitäten dadurch, daß Restaktivität des Tages n jeweils nur 91,74 % ($t/2 = 8,04$ d) (40) der des Vortages genommen werden: $(0,9174 \times G(n-1))$

ff. Einschränkungen

Bei der isotopentechnischen Methode können zur Erfassung von Proteinkonzentrationsänderungen immer nur Alterationen der dazugehörigen Aktivitätskonzentrationen gemessen werden. Ob molekulare Umgestaltungen, Abbaumechanismen oder Ähnliches wirksam werden, ist nicht zu erkennen. Es werden stets nur die radioaktiven Zerfälle des Isotops gezählt. Wie aus zahlreichen Veröffentlichungen (20, 21, 22, 28, 28, 58, 81, 100, 122) zu entnehmen ist, kann dem System eine für unsere Fragestellung hinreichende Aussagekraft zugebilligt werden. Dies gilt insbesondere für die Erfassung der im Blut gefundenen Aktivitäts- bzw. Proteinkonzentrationen. Bei den Werten, die in Gewebeproben und vor allem in Urin und Darminhalt ermittelt wurden, ist sicher eine weit weniger strenge Korrelation zwischen Aktivität und

g-Globulin-Konzentration gegeben.

Unter Berücksichtigung dieser Vorbehalte werden aber auch hier die beiden Ausdrücke synonym gebraucht.

Der Einwand, daß die Eiweißmoleküle sicher sehr bald, nachdem sie in die Blutbahn injiziert werden, erheblichen biochemischen und immunologischen Umwandlungsprozessen unterworfen sind (97), gilt sowohl für ALG als auch für NPG. Eine Miteinbeziehung derartiger Metabolite (21) ergibt jedoch ein noch umfassenderes Bild von biologischen Unterschieden zwischen den beiden g-Globulinen. Um jedoch die gefundenen Aktivitätskonzentrationen tatsächlich mit Proteinspiegeln in Bezug setzen zu können, ist mit den gleichen Seren auch der Immundiffusionstest ausgeführt worden.

g. Berechnung der Proteinkonzentration im Gewebe

Hierbei wurde in gleicher Weise verfahren wie bei der Ermittlung von P_r im Blut, der dazugehörige Wert für das Blut- P_r sodann als 100 % gesetzt.

h. Berechnung der Tagesprofile

Hierfür gilt das oben Ausgeführte, lediglich mit dem Unterschied, daß für 100 % der gefundene 3-Stunden-Wert steht.

i. Berechnung der Ergebnisse

Die gefundenen Formeln wurden in einem Rechenprogramm zusammengefaßt und so die gesuchten Größen ermittelt (31, 32, 33).

5. Statistische Berechnungen

Aus den Einzelergebnissen wurde die Anzahl der Werte im Kollektiv (n), das arithmetische Mittel ($\bar{X}$), die Streuung (S) sowie die Standardabweichung des arithmetischen Mittel ($s\bar{X}$) errechnet. Sind die Ergebnisse zweier Gruppen gegenübergestellt, wurde die Signifikanz der Aussage durch den t-Test (Student-

-Verteilung) überprüft (9, 10, 40, 41). In den Tabellen erscheinen die Symbole 1 - 4 für die Irrtumswahrscheinlichkeit in Prozent (p).

In den Tabellen verwendete Symbole für die Signifikanz (p^*)

Irrtumswahr- scheinlichkeit	S i g n i f i k a n z	Symbol
50% - 25%	nicht signif.: $0,50 > p > 0,25$	(1)
25% - 5%	nicht signif.: $0,25 \geq p > 0,05$	(2)
5% - 1%	signifikant : $0,05 \geq p > 0,01$	(3)
unter 1%	hoch signif. : $0,01 \geq p$	(4)

VI. Gruppeneinteilung

1. nach Art des verwendeten α -Globulins

a. ALG-Hunde

Diese Gruppe bestand aus 6 Tieren mit den Nummern 1, 2, 3, 5, 6 und 8. Davon bilden die Hunde 1 und 2 sowie 5 und 6 je eine Behandlungseinheit, d.h., diese Tiere standen gleichzeitig im Versuch. Sie bekamen also an gleichen Tagen gleich stark markiertes Protein.

ALG	1, 2, 3, 5, 6, 8	Hund
NPG	4, 7, 9, 10, 11, 12	

b. NPG-Hunde

Hierbei handelt es sich ebenfalls um 6 Tiere. Die Nummern sind 4, 7, 9, 10, 11. und 12. Nummer 9 und 10 sowie 11 und 12 bilden ebenfalls eine Behandlungseinheit.

Bei den Hunden 4 und 7 kam das NPG der Behring-Werke, bei 9,

10, 11 und 12 das unter Kap. II,2 beschriebene NPG zur Anwendung.

2. nach dem Zeitpunkt der Organentnahme

Tag der Gewebsentnahme	Hunde - Nr.		
2	8	-	
15	2	4,11	
21	5,6	-	
33		9,10,12	
(29)	7		(s. auch S.)
ALG		NPG	

3. nach dem Zeitpunkt der Tagesprofile

Tag	Hunde-Nummer	
	ALG	NPG
1	1,2,8	-
4	1,2,3,5,6	4,7
7	1,2,3,5,6	4,7
11	1,2,3,5,6	4,7
14	3	4

VII. Zeitablauf und Dosierung

1. Blutabnahme

Durch Punktion einer Beinvene wurde den Tieren täglich etwa 1,5 ml Blut in einer heparinisierten Spritze entnommen. Davon kam 1 ml in das vorbereitete Zählröhrchen. Zusätzlich wurden etwa 5 ml Blut in einem Zentrifugenglas aufgefangen, später die Zellen sedimentiert und das Serum eingefroren. Ferner wur-

den zwei Blutausschläge angefertigt und Blut zur Leukozytenzählung in die entsprechenden Pipetten aufgezogen. Dies dauerte in der Regel 5 Min. pro Hund.

Um sowohl Schwankungen zu vermeiden, die durch unterschiedliche Tagesrhythmen der Tiere bedingt sind, als auch die Berechnung der Eliminationsraten zu erleichtern, wurden die Proben stets um 12 Uhr mittags [±] einer halben Stunde entnommen. Bei Tieren einer Behandlungseinheit wurde immer die gleiche Reihenfolge beibehalten.

2. g-Globulin-Gabe

24 Stunden vor der ersten Proteingabe bekamen die Versuchstiere 0,4 g Hexamethyldiaminoisopropanoldijodid (20 %ige wässrige Lösung)* i.v. injiziert.

Alle Tiere außer dem Hund 8 erhielten vom Tag 1 bis zum Tag 11 einmal täglich intravenös eine Dosis von 20 mg Protein/kg Körpergewicht einer ALG- bzw. NPG-Lösung. Diese Injektion erfolgte unmittelbar, nachdem die Blutproben entnommen waren, zur Schonung der Venen möglichst unter Verwendung der gleichen Kanüle.

Der Hund Nr. 8 wurde 24 Stunden nach der ersten Injektion getötet, den Tieren Nr. 3 und 4 am 14. Tag zusätzlich eine volle Dosis injiziert.

3. Tagesprofile

An den Tagen 4, 7 und 11 wurden 1/2, 1, 2 und 3 Stunden nach der Routinemessung nochmals Blutproben entnommen, um die Verteilung und den Verlauf der einzelnen Parameter jeweils nach 3-stündigen Intervallen studieren zu können (s.S. 9).

Am Tag 1 bzw. 14 kam es bei den Hunden 8 bzw. 3 und 4 zu wei-

* Endojodin, Bayer - Leverkusen

teren Abnahmen bis 24 Stunden nach der vorausgegangenen Injektion.

4. Organentnahmen

Der Hund Nr. 8 wurde 24 Stunden nach der ersten Injektion getötet; die Tiere mit Nummer 2, 4 und 11 am Tag 15; mit Nummer 5 und 6 am Tag 21; mit Nummer 7 am Tag 29; die Hunde Nr. 9, 10 und 12 am Tag 33 (s.S. 18).

Bei den Gewebseentnahmen wurde darauf geachtet, daß die Organstückchen möglichst nicht durch Instrumente, Blut u.A. kontaminiert werden konnten.

Von folgenden Organen waren 0,5 - 3,0 Gramm schwere Stückchen entnommen und in Teströhrchen wie die Blutproben gezählt worden.

"RHS"

1. Milz
2. Leber
3. Lunge
4. Hiluslymphknoten
5. Mesenteriallymphknoten

"Exkretion"

6. Dünndarm
7. Dünndarminhalt
8. Nierenrinde
9. Nierenmark
10. Urin
11. Dickdarm
12. Dickdarminhalt

"Rest"

13. Haut und Haare
14. Schilddrüse
15. Skelettmuskel
16. Herzmuskel

Die Gewebeproben wurden nach grob funktionellen Gesichtspunkten in 3 Gruppen zusammengefaßt:

Organe, die vorwiegend im Dienste der Antigenerkennung sowie der Aufschließung des Antigens stehen (Gruppe "RHS", Nr. 1 mit 5).

Organe, über die abgebautes Antigen eliminiert wird, bzw. deren Ausscheidungsprodukte (hier ist besonders mit dem Auftreten von z.B. freiem oder an katabolische Substanzen gebundenem Jod¹³¹ zu rechnen (76, 83).)(Gruppe "Exkretion", Nr. 6 mit 12).

Organe, für die kein mittelbarer Zusammenhang zu immunologischen Grundphänomenen bekannt ist (Gruppe "Rest", Nr. 13 mit 16).

Ferner wurde als "Gesamtgewebekonzentration" die Summe der gefundenen Organkonzentrationen ermittelt. Die Proteinmengen, die sich für Urin und Darminhalt ergaben, wurden aus den oben genannten Gründen nicht berücksichtigt. Sie unterlagen zudem sehr großen Schwankungen.

5. Messungen

Für die Blutabnahmen und Injektionen wurden pro Hund etwa 10 Minuten benötigt. Da in der Regel 3 Hunde gleichzeitig im Versuch standen, konnte der Szintillationszähler meist eine halbe Stunde nach der ersten Punktion mit den Proberöhrchen beschickt werden. Das Gerät zählte sie automatisch 3 x 10 Min. und zog die Raumstrahlung ab. Die Einzelergebnisse wurden gemittelt.

Zwischenzeitlich waren die Leukozytenwerte zu bestimmen und die Seren nach der Zentrifugation einzufrieren.

C. ERGEBNISSE

I. In vitro-Untersuchungen der g-Globuline

1. Tests

- a. Elektrolytmessungen an den injektionsfertigen Proteinsuspensionen ergaben einen Gehalt an K^+ von 0,05 bis 0,21 mEq/l bei einem Durchschnitt von etwa 0,1 mEq/l. Na^+ fand sich in Konzentrationen im Bereich zwischen 151 und 167 mEq/l; das Mittel lag bei 159 mEq/l.
- b. Hämagglutinierende Eigenschaften konnten beim verwendeten ALG nicht nachgewiesen werden. Auch die Normalpferdeglobuline agglutinierten Hundeerythrozyten nicht.
- c. Das Antilymphozytenglobulin zeigte einen zytotoxischen Titer gegen Hundelymphozyten von 1 : 2048. Für NPG fand sich keine derartige Zytotoxizität.
- d. Mit 5 g% wies das NPG der Behring-Werke die höchste Eiweißkonzentration auf. Das NPG eigener Herstellung lag bei 3,86 g% und im ALG fanden sich 4,75 g% Protein.
- e. Während im ALG und im eigenen NPG bis zu 30 % b-Globulin-Anteile nachweisbar waren, bestand das NPG der Behring-Werke praktisch ausschließlich aus g-Globulin.

2. Markierung

Die mit I^{131} gelabelten Proteinsuspensionen zeigten am Markierungstag in der Endverdünnung eine Aktivitätskonzentration von im Mittel $1,9 \times 10^5$ cpm/ml.

II. In vivo-Untersuchungen der g-Globuline

1. Überprüfung der immunsuppressiven Wirkung

Die immunsuppressive Wirkung des verwendeten ALG's konnte im xenogen-nahverwandten System Fuchs-Hund durch Nierentransplantation überprüft werden (83, 102). Unter ALG-Monotherapie von 20 mg Protein/kg Körpergewicht lag die mittlere Transplantatüberlebenszeit mit $15,7 \pm 2,7$ Tagen ($n=10$) signifikant höher als die unbehandelten Kontrolltiere von $6,5 \pm 0,4$ Tage ($n=8$). Das ist gegenüber den Kontrollen eine Verlängerung um $9,5 \pm 2,3$ Tage auf 241 %.

2. Blutbildveränderungen

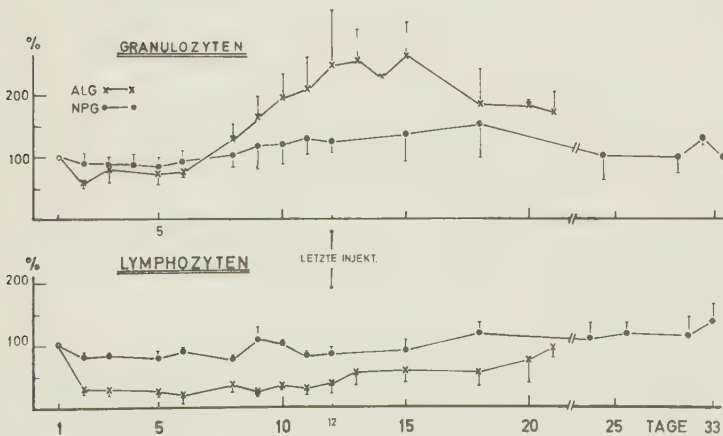


Abb. 1: Granulozyten- und Lymphozytenverlauf
Prozentuale Auftrag, bezogen auf Tag 1 = 100 %.

Der Verlauf der Mittelwerte von Granulozyten und Lymphozyten ist in Abbildung 1 dargestellt. Die Werte sind der Tabelle 1

zu entnehmen.

Die absoluten Zellzahlen jeden Tieres wurden hierzu in Prozent des Ausgangswertes umgerechnet und gemittelt.

a. Granulozyten

Während und nach dem Behandlungszyklus von 11 Tagen bei 20 mg Protein pro Kilogramm Körpergewicht täglich weichen die Granulozyten bei NPG-Gaben nur unwesentlich von der Norm ab. Sie sinken innerhalb der ersten 24 Stunden auf etwa 90 % des Ausgangswertes, steigen ab Tag 5 langsam wieder an, überschreiten am 8. Tag in etwa die 100 % und erreichen 18 Tage nach Versuchsbeginn mit 150 % das Maximum. Bis zum Versuchsende (Tag 33) bewegen sie sich zwischen diesen und dem Ausgangswert von 100 %.

Im Verlauf ähnlich, nur mit wesentlich ausgeprägterem Anstieg, verhalten sich die Granulozyten bei ALG-Applikation: hier fallen sie innerhalb des ersten Tages um annähernd ein Drittel ab, bleiben bis zum 3. Tag unter 80 %, schneiden die 100 %-Linie am Tag 7 und steigen dann steil während der nächsten 5 Tage an. Dieses Plateau von ungefähr 250 % des Ausgangs wird bis Tag 15 gehalten. Bei Versuchsende (Tag 21) liegen sie bei 150 %, ohne nochmals unter diesen Wert gesunken zu sein.

Trotz eines deutlichen Unterschiedes im Verlauf der Mittelwertskurven sind die Ergebnisse wegen erheblicher Streuungen nicht signifikant.

b. Lymphozyten

Innerhalb der NPG-Gruppe fallen die Lymphozyten nach der ersten Gabe auf ca. 80 % ab und verbleiben in etwa während der ersten 8 Tage auf diesem Niveau. Am Tag 9 und 10 liegen die Werte um, bzw. über 100 %. Vom Tag 11 steigen sie wieder langsam von 80 % aus an. Bis zum Versuchsende am 33. Tag ist eine stetige Zunahme auf 136 % zu verzeichnen.

Tab. 1: Granulozyten Prozentuale Auftragung, bezogen auf Tag 1 = 100 %.

Tab. 2: Lymphozyten

Granulozyten						Lymphozyten					
ALG			NPG			ALG			NPG		
Tag	n	$\bar{X}$ s	$\bar{X}$ s	n	$\bar{X}$ s	Tag	n	$\bar{X}$ s	$\bar{X}$ s	n	$\bar{X}$ s
1	5	100	0	0	6	100	0	0	6	100	0
2	3	59	7	4	6	89	34	14	2	3	31
3	5	83	41	18	6	87	33	14	1	3	27
5	5	71	39	17	6	89	38	16	2	4	21
6	3	76	9	5	6	94	20	8	2	3	19
8	4	128	53	26	6	102	45	18	2	4	33
9	5	164	71	32	5	116	78	35	2	5	24
10	5	194	90	40	6	121	78	32	2	5	33
11	5	209	119	53	6	128	58	24	2	4	31
12	5	246	206	93	6	124	42	17	2	4	38
13	5	251	109	49					2	4	53
14	3	228	17	10							
15	5	263	118	53	4	134	96	48	2	4	58
18	4	183	113	57	4	151	111	56	1	3	56
19	3	180	15	8							
20	3	186	87	50							
21	4	170	68	34							
23					3	104	66	38			
26					4	100	52	26			
31					3	130	20	12			
33					3	120	53	30			

* s.S. 17

Hochsignifikant unterschiedlich zur NPG-Gruppe verhält sich die Lymphozytenkurve bei ALG-Gabe. Hier findet sich ein starkes Abfallen der Zellzahl innerhalb der ersten 24 Stunden auf ca. ein Drittel des Ausgangswertes. Sie fällt weiter, bis am 6. Behandlungstag mit 19 % das Minimum erreicht ist. In den folgenden 6 Tagen schwankt der Lymphozytengehalt zwischen 20 % und 40 %. Bis Tag 18 liegt er dann um 55 % und kommt erst am 21. Tag wieder auf 92 %.

In der von uns gewählten Dosierung beeinflußt NPG den Verlauf der Granulozyten und Lymphozyten nur unwesentlich. ALG hingegen zeigt von der ersten Gabe an eine mittelgradige Granulozyto- und eine ausgeprägte Lymphozytopenie. Vom 6. Tag an erfährt die Granulozytenpopulation einen starken Zuwachs. Diese erheblich gesteigerten Werte bleiben bis zum Versuchsende bestehen. Die hochgradige Lymphozytopenie nimmt erst nach Beendigung der ALG-Therapie ab. Zum Versuchsende am Tag 21 ist der Ausgangswert noch nicht ganz erreicht.

3. Histologische Veränderungen

Die histologischen Befunde ALG-behandelter Tiere zeigten ein ziemlich einheitliches Bild:

a. Mesenteriallymphknoten

Es fand sich eine deutlich bis stark ausgeprägte numerische Reduktion der kleinen Lymphozyten vor allem in der Pulpa, aber auch in den kortikalen Abschnitten, mit deutlicher Vermehrung von Plasmazellen und follikelartig angeordneten Blasten in der Rinde. Dabei bestand teilweise starke mitotische Aktivität in den Follikeln.

b. Hiluslymphknoten

In den Hiluslymphknoten waren ganz ähnliche Bilder zu sehen, was die Verminderung der kleinen Lymphozyten, die Ver-

mehrung der Plasmazellen und die Blastenaktivität angeht. Zusätzlich war im Mark eine zum Teil deutliche Hyperplasie der Sinusendothelien mit hochgradiger Kerntrümmernphagozytose zu erkennen.

c. Milz

Die Follikel erschienen numerisch reduziert, zum Teil fehlte die Mantelzone. Die Keimzentren waren verkleinert und der Zellgehalt der roten Pulpa allgemein bei deutlicher Erhöhung der Plasmazellzahl vermindert.

d. Leber - Lunge - Niere

Hier fanden sich keine Veränderungen, die in Zusammenhang mit der ALG-Behandlung gebracht werden könnten.

4. Sensibilisierungsgrad der Hunde durch Fremdprotein

Der Grad der Sensibilisierung der Versuchstiere gegen Pferdeprotein wurde mit der Technik der aktiven Hämagglutination kontrolliert. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 2 und Tabelle 3 dargestellt.

Die unvorbehandelten Hunde hatten aufgrund präformierter natürlicher Antikörper einen unterschiedlich hohen Spontantiter gegen Pferdeerythrozyten. Er lag zwischen 6 und 7 Titerstufen.

Nach den ersten Proteingaben sanken die Titer dann bei beiden Gruppen auf die Stufe 5 und verblieben dort bis zum 5. Tag.

a. NPG-Gruppe

Vom Tag 8 ab zeigte sich bei einer Schwankungsbreite von einer Titerstufe ein allmählicher Anstieg auf die Stufe 8 (Tag 15). In diesem Bereich verblieb der Titer bis zum Versuchsende (Tag 26).

b. ALG-Gruppe

Hier setzt am 6. Tag ein steiler Anstieg des Antikörpertiters ein. Die zur NPG-Gruppe signifikant unterschiedlichen Werte zeigen eine Verdoppelung von Tag 5 auf Tag 10, um zwei Tage später mit 12 auf die höchste Titerstufe des Verlaufes anzuwachsen. Unter die Größe 2^{11} sinkt der Titer bis zu Versuchsende am Tag 21 nicht mehr ab.

Tab. 3: Sensibilisierungsgrad der Hunde gegen Pferdeprotein, gemessen mit der aktiven Hämagglutination (Titer = 2^d).

Aktive Hämagglutination									
Tag	n	A L G			n	N P G			p*
		$\bar{X}$	s	s $\bar{X}$		$\bar{X}$	s	s $\bar{X}$	
1	5	7	2	1	6	6	2	1,0	2
3	5	5	2	1	6	5	1	0,5	1
5	5	5	2	1	6	5	1	0,5	1
6	5	6	2	1	6	5	2	1,0	1
8	5	9	3	1	6	6	2	1,0	3
9	4	9	3	2	6	7	2	1,0	2
10	4	10	3	2	6	6	2	1,0	3
11	4	10	3	1	6	7	3	1,0	3
12	4	12	3	1	6	7	3	1,0	3
15	4	12	3	1	5	8	4	2,0	3
18	3	11	4	2	4	7	4	2,0	2
21	3	11	4	2					
23					4	8	4	2,0	
26					4	8	3	2,0	

(*s.s. 17)

Die sensibilisierende Wirkung ist also bis zur 5. g-Globulin-Gabe für NPG bzw. ALG gleich gering; der Titer natürlicher präformierter Antikörper geht innerhalb dieses Behandlungszeitraumes sogar leicht zurück. Erst ab Tag 6 ist der Sensibilisierungsgrad durch ALG erheblich stärker als durch NPG.

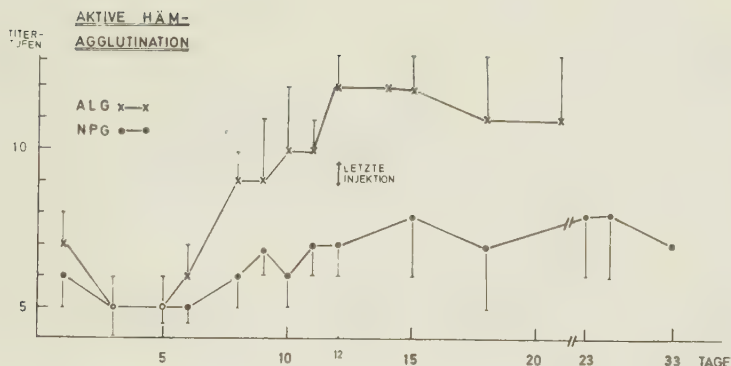


Abb. 2: Sensibilisierungsgrad der Hunde gegen Pferdeprotein, gemessen mit der aktiven Hämagglutination (Titer= 2^d).

III. Wiederauffinden der g-Globulin-Reste

1. Immunchemische Quantifizierung

Mit Hilfe der von MANCINI angegebenen Technik ist es möglich, Fremdproteinkonzentrationen in Testseren zu bestimmen. Die in unseren Versuchen gefundenen Größen sind in Abbildung 3 und Tabelle 4 zusammengestellt.

a. NPG-Gruppe

Die Blut-Konzentration nimmt von Tag 2 (63 mg/l) einen steilen Anstieg bis zum Tag 5.(252 mg/l). Hier verringert sich der Zuwachs bis zum Tag 8 um die Hälfte. Schließlich nimmt der Blutspiegel bis zum 11. Tag hin wieder mit der Progredienz wie an den ersten 5 Tagen zu. Dabei wird ein Maximum von 498 mg/l erreicht.

Zwischen Tag 12 und 15 liegt ein erheblicher Konzentrationsabfall von 470 mg/l auf 255 mg/l. Nach einer langsamen Abkling-

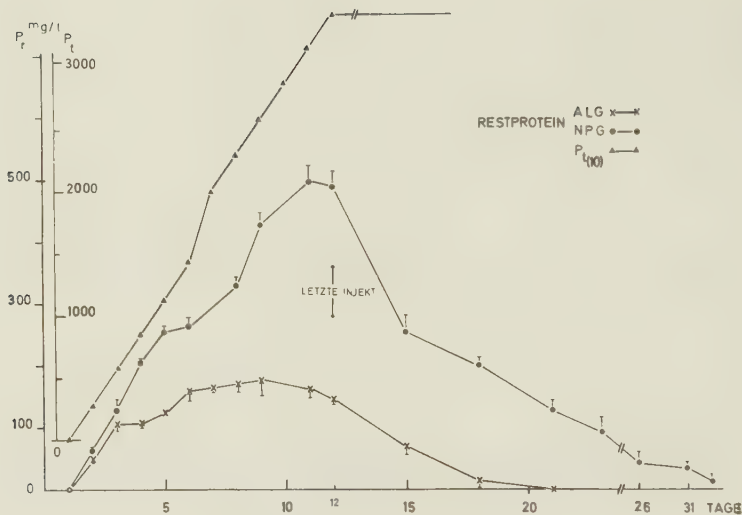


Abb. 3: Verlauf der Restproteinkonzentrationen mit der Immundiffusionstechnik gemessen und der theoretischen Proteinverlaufskurve für einen Hund (Nr. 10) gegenübergestellt.

phase annähernd linearen Verlaufes beträgt die NPG-Konzentration zum Versuchsende (Tag 33) noch 14 mg/l Vollblut.

b. ALG-Gruppe

Nach anfangs rasch zunehmender Proteinkonzentration ist zwischen den Tagen 3 und 5 nur ein geringgradiger Zuwachs zu verzeichnen. Nach einem etwas stärkeren Anstieg von 125 mg/l (Tag 5) auf 162 mg/l (Tag 6) erfolgt eine Zunahme nur ganz geringen Ausmaßes, obwohl weiterhin die volle Tagesdosis von 20 mg/kg verabreicht wurde. Am 8. Tag ist hier mit 180 mg/l Vollblut das Maximum erreicht. Nach gleichmäßiger Abnahme ist mit dieser Methode am 21. Tag nach Versuchsbeginn kein ALG im Serum der Hunde mehr nachzuweisen.

Vom Tag 5 ab liegt die im Blut gefundene ALG-Konzentration hochsignifikant unter derjenigen für NPG. Das Maximum für NPG erreicht den fast dreifachen Wert der größten ALG-Konzentration. Nach 21 Tagen sind im Blut der NPG-Tiere noch 125 mg/l nachweisbar. Zum selben Zeitpunkt konnte bei den Hunden der ALG-Gruppe kein Pferdeprotein mehr erfaßt werden. Hingegen sind 33 Tage nach der ersten Injektion bei den NPG-Hunden immer noch 14 mg/l Vollblut gefunden worden.

Tab. 4: Restprotein in mg pro Liter Vollblut gemessen mit der Immundiffusionstechnik.

Restprotein										
A L G					N P G					
Tag	n	$\bar{X}$	s	s $\bar{X}$	n	$\bar{X}$	s	s $\bar{X}$	p*	
1	4	0	0	0	4	0	0	0		
2	4	53	6	3	3	63	5	5	2	
3	4	106	11	6	3	129	18	10	3	
4	3	109	8	4	4	208	7	3	3	
5	3	125	2	1	4	252	9	5	4	
6	4	162	17	10	4	262	11	5	4	
7	4	167	8	4						
8	4	173	13	7	4	326	13	6	4	
9	4	180	26	13	4	429	19	9	4	
11	4	165	15	8	4	498	29	15	4	
12	3	148	6	3	4	470	26	13	4	
15	3	75	11	6	4	255	23	11	4	
18	3	17	14	9	3	203	11	6	4	
21	3	0	0	0	3	125	15	8	4	
23					3	96	23	13		
26					3	42	14	8		
31					3	37	7	4		
33					3	14	13	8		

(* s.S. 17)

2. Isotopentechnische Quantifizierung

a. Blutspiegel

aa. Restprotein (P_r)

In Tabelle 5 sind die Werte zusammengefaßt, die sich für den Rest-ALG- bzw. NPG-Gehalt aus den wiedergefundenen Aktivitäten in Milligramm pro Liter Vollblut ergeben. Die entsprechenden Streckenzüge sind den Abbildungen 4 und 5 zu entnehmen.

Die Mittelwerte der mit NPG behandelten Tiere steigen steil bis zum 9. Tag an. Bis zu diesem Zeitpunkt verhält sich der gefundene Zuwachs auch annähernd linear. Im Folgenden bildet sich bis zum Absetzen der NPG-Medikation am Tag 12 ein Plateau bei ca. 205 mg/l aus.

Der NPG-Spiegel nimmt nunmehr bis zum 16. Tag nach Versuchsbeginn mit der gleichen Steilheit ab, mit der die Zunahme erfolgte. Es liegt also ein weitgehend spiegelbildlicher Verlauf vor, dessen Symmetrieachse durch den Punkt 10,5 Tage ginge. Im Folgenden nimmt der NPG-Rest langsam ab, bis er am Tag 29 das Minimum mit 51 mg/l erreicht, um am Tag 33, wieder leicht ansteigend, bei 88 mg/l zu liegen.

Vom Zeitpunkt der letzten Injektion an verringert sich der NPG-Spiegel im Blut annähernd logarithmisch. Die Halbwertszeit des Proteins beträgt in diesem Bereich etwa 6 Tage.

Deutlich anders verhält sich das im Hundeblut auffindbare Rest-ALG.

24 Stunden nach der ersten Injektion erreicht der Proteinpiegel mit 54 mg/l nur etwa die Hälfte des Wertes, der zum selben Zeitpunkt nach der ersten NPG-Gabe gefunden wurde. Mit vergleichbarer Steilheit nimmt die ALG-Konzentration während der nächsten drei Tage zu, die dann bereits auf ein Plateau einschwenkt, das, von unwesentlichen Differenzen ab-

Tab. 5: Restprotein in mg pro Liter Vollblut
gemessen mit der Isotopentechnik

Restprotein									
A L G					N P G				p *
Tag	n	$\bar{X}$	s	s $\bar{X}$	n	$\bar{X}$	s	s $\bar{X}$	
1	5	0	0	0	6	0	0	0	
2	5	54	7	3	6	106	28	11	1
3	5	97	11	5	6	159	31	13	4
4	5	140	13	6	5	219	48	22	4
5	5	177	30	14	5	280	41	18	4
6	5	187	30	13	5	345	38	17	4
7	5	206	17	8					
8	4	206	19	9	6	461	71	29	4
9	4	190	9	5	6	554	123	50	4
10	4	206	12	6	6	582	109	44	4
11	4	208	29	15	6	581	77	31	4
12	4	202	45	23	6	563	73	30	4
13	4	149	36	18	6	506	87	35	4
14	4	107	14	7					
15	4	89	20	10	6	393	9	32	4
16					3	321	100	58	
18	4	56	22	11	4	284	79	39	4
19	3	27	17	10	4	248	67	34	4
20	3	12	3	2					
21	3	6	6	4	4	153	38	19	4
23					4	128	35	17	
24					3	109	43	24	
25					4	93	30	15	
26					4	86	35	17	
27					4	71	29	14	
29					4	51	41	20	
31					3	71	41	24	
32					3	97	27	16	
33					3	88	40	23	

(* s.s. 17)

gesehen, bis zur letzten Dosis am Tag 12 bei etwa 200 mg/l aufrechterhalten bleibt. Auch erfolgt die Abnahme zunächst bis Tag 17 schneller. Schließlich klingt sie während der nächsten 4 Tage langsam aus. Als wesentlicher Unterschied zur NPG-Gruppe ist hier schon am 21. Tag praktisch kein Protein mehr nachweisbar.

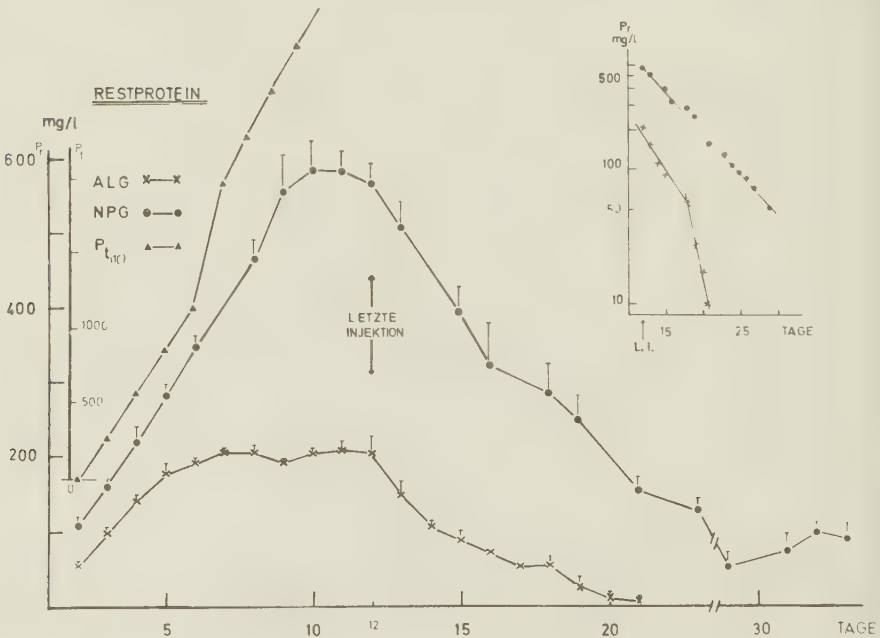


Abb. 4: Verlauf der Restproteinkonzentrationen mit der Isotopentechnik gemessen und der theoretischen Proteinverlaufskurve für einen Hund (Nr. 10) gegenübergestellt.

Ein logarithmischer Verlauf in der ALG-Abnahme kann nur bedingt gefunden werden (Abb. 4). Hierbei gehorchen allerdings die Werte von Tag 12 mit 15 und Tag 18 mit 21 je zwei ver-

schiedenen Funktionen. Die Halbwertszeit beträgt zunächst ca. 2 Tage dann 1 Tag.

Betrachtet man die Student-Verteilung zu den jeweiligen Werten beider Kollektive, so zeigt sich ab Tag 3 für jedes Paar eine hohe Signifikanz, d.h., die Irrtumswahrscheinlichkeit liegt bei den Polygonzügen von Abbildung 3 und 4 unter 1 %.

Noch deutlicher treten die quantitativen Unterschiede zwischen dem NPG- und ALG-Blutspiegel hervor, wenn die Werte in ein Polarkoordinatensystem eingetragen werden. Hierbei entspricht ein Sektor von 10° einem Tag. Alle Sektorenscheitel liegen im Nullpunkt der radial aufgetragenen Proteinkonzentrationen. Die Tagessektoren sind im Uhrzeigersinn aneinandergereiht.

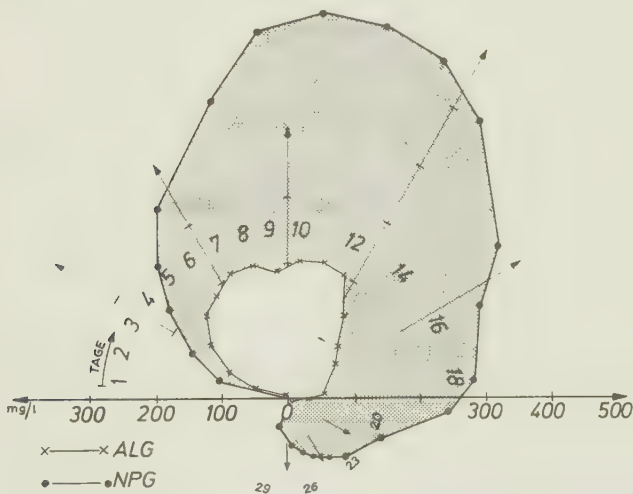


Abb. 5: Verlauf der Restproteinkonzentrationen mit der Isotopentechnik gemessen (Darstellung als Polarkoordinaten-Diagramm).

Innerhalb eines Tagessektors entspricht die (zentral gelegene) weiße Fläche der ALG-Konzentration dieses Tages. Die mit der NPG-Konzentration korrespondierende Fläche wird von jenem weißen ALG-Anteil plus dem schraffierten Bereich gebildet. Über die Gesamtdauer der Versuche gerechnet beträgt die wiedergefundene Proteinmenge für ALG nur etwas mehr als $1/5$ des für NPG gefundenen Wertes. Die Ergebnisse sind hoch signifikant.

Unter Berücksichtigung der Einzelkurven konnte keine Differenz im Ausscheidungsmodus zwischen der reinen g-Globulinfraktion und der gefunden werden, die einen b-Globulin-Anteil aufwies.

bb. Restprotein relativ (P_r/t)

Abbildung 6 sowie Tabelle 6 zeigen, wieviel der für den jeweiligen Tag berechneten theoretischen Proteinkonzentration tatsächlich gefunden wurde (s.S. 14).

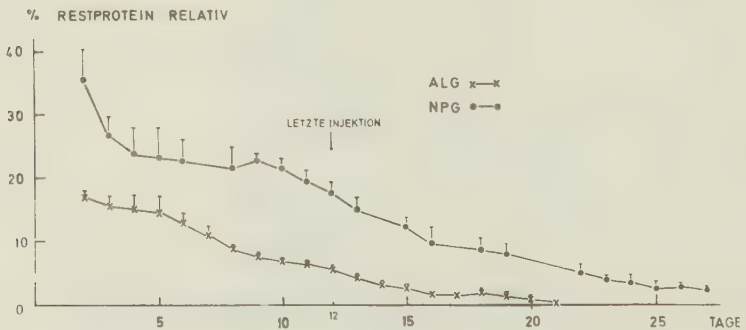


Abb. 6: Restprotein relativ in Prozent der theoretischen Proteinkonzentration (Isotopentechnik).

Außerdem ist angegeben, um wieviele Prozent das relative Restprotein von Tag zu Tag abnimmt ($\bar{x}$). Tag 1 ist hierbei nicht

berücksichtigt, da vor der 1. Injektion die theoretische Proteinkonzentration gleich Null und somit der Quotient $P_r : P_t$ nicht definiert ist.

24 Stunden nach der ersten Proteingabe finden sich in 1 Liter Vollblut $1/3$ der theoretischen NPG- und nur $1/6$ der theoretischen ALG-Konzentration. Im Verlauf des 2. Tages nimmt der NPG-Wert erheblich - nämlich um 8,9 % - ab, während sich der entsprechende ALG-Wert nur um 1,5 % verringert. Der relative ALG-Rest vermindert sich in den folgenden beiden Tagen noch weniger. Erst ab Tag 5 sinkt er zunächst um 2 %, dann bis zum Tag 9 um über 1 %. Zu diesem Zeitpunkt ist etwa die Hälfte des Ausgangswertes erreicht. Im weiteren Verlauf liegt außer an den Tagen 12 bis 14 (1,4 bzw. 1,1 %) die tägliche Verringerungsrate um 0,5 %.

Bei der NPG-Gruppe hat sich am Tag 3 erst ein stabiler Wert eingestellt. Die Verringerungsrate liegt bis Tag 9 unter 0,5 %, am Tag 10 erreicht sie einen negativen Wert, d.h., das relative Restprotein hat gegenüber dem Vortag etwas zugenommen. Nun folgt eine Phase erhöhter Elimination; die Verringerungsrate liegt bis zum 20. Tag über einem Prozent. Von diesem Zeitpunkt an ist im Weiteren eine geringe Abnahme (täglich etwa 0,5 %) zu verzeichnen. Von Tag 31 bis zum Versuchsende steigt der Anteil des relativen Restproteins wieder geringfügig an.

Das unterschiedliche Verhalten des NPG- und ALG-Kollektivs ist hoch signifikant bis signifikant.

b. Gewebskonzentrationen

Um eine etwaige Vorstellung über die Verteilung des ALG bzw. NPG in den verschiedenen Organsystemen zu erhalten, wurden zu verschiedenen Zeiten Gewebstückchen stichprobenartig auf ihre ALG- bzw. NPG-Konzentration hin untersucht.

Tab. 6: Restprotein relativ
in Prozent der theoretischen Proteinkonzentration
(Isotopentechnik)

Restprotein relativ												
A L G						N P G						
Tag	n	$\bar{x}$	$\Delta \bar{x}$	s	s $\bar{x}$	n	$\bar{x}$	$\Delta \bar{x}$	s	s $\bar{x}$	p*	
2	5	16,9	1,5	2,2	1,0	6	35,6	8,9	11,7	4,8	4	
3	5	15,4		3,7	1,7	6	26,7		7,5	3,1	4	
4	5	15,1	0,3	4,9	2,2	5	23,8	2,9	9,2	4,1	3	
5	5	14,3	0,8	6,1	2,7	5	23,3	0,5	7,7	3,5	3	
6	5	12,3	2,0	4,4	2,0	5	22,8	0,5	6,9	3,1	3	
7	5	11,0	1,3	2,7	1,2							
8	4	8,5	2,5	1,0	0,5	6	22,1		6,6	2,7	4	
9	4	6,9	1,6	1,5	0,8	6	22,3	0,2	3,6	1,5	4	
10	4	6,6	0,3	0,8	0,4	6	21,1	1,2	4,5	1,8	4	
11	4	6,1	0,5	0,6	0,3	6	19,2	0,9	4,4	1,8	4	
12	4	5,4	0,7	0,7	0,4	6	17,4	1,8	4,8	1,9	4	
13	4	4,0	1,4	0,3	0,1	6	15,6	1,8	4,6	1,9	4	
14	4	2,9	1,1	0,3	0,2							
15	4	2,4	0,5	0,5	0,3	6	12,0		3,9	1,6	4	
16						3	9,3	2,7	4,8	2,8		
18	3	1,6		0,6	0,4	4	8,3	1,0	4,0	2,0	3	
19	3	1,0	0,6	0,7	0,4	4	7,3	1,0	3,5	1,8	3	
20	3	0,4	0,6	0,1	0,1							
21	3	0,3	0,1	0,3	0,2	4	4,4		1,9	1,0	3	
23						4	3,7	0,7	1,8	0,9		
24						3	3,3	0,4	2,1	1,2		
25						4	2,8	0,5	1,5	0,8		
26						4	2,6	0,2	1,5	0,7		
27						4	2,2	0,4	1,3	0,7		
29						4	1,6	0,6	1,6	0,8		
31						3	2,2	0,6	1,8	1,0		
32						3	3,0	0,8	1,7	1,0		
33						3	2,8	0,2	2,0	1,1		

(* s.S. 17)

Die untersuchten Organe wurden in 3 Gruppen zusammengefaßt: Organe des retikulo-histozytären Systems (RHS), der Exkretion (E) sowie Muskulatur, Haut und Schilddrüse (R). Ferner kam die Summe aller Gewebskonzentrationen (ohne Urin und Darminhalt) zur Darstellung. Die Werte sind in Tabelle 7 ausgewiesen und in der Abbildung 6 aufgetragen.

1. An sämtlichen untersuchten Tagen sind in der Gruppe E die höchsten Konzentrationen gefunden worden, gefolgt von RHS und R. Dies gilt sowohl für ALG als auch für NPG-behandelte Hunde.
2. Am ALG-Kollektiv zeigen alle drei Gruppen am Tag 21 die niedrigsten und am Tag 15 die höchsten Werte, wobei auch deren Verlauf annähernd gleich ist und durchaus dem der absoluten Blutproteinkonzentration entspricht. Herausragend sind die unverhältnismäßig hohen Konzentrationen im Urin.
3. Am Tag 15 beispielsweise beträgt der absolute ALG-Spiegel im Blut ein Viertel des vergleichbaren NPG-Spiegels. Die Aktivität im Urin hingegen ist bei ALG-Applikation annähernd 40 mal höher als bei NPG-Gabe. Betrachtet man E, so ist das Verhältnis ALG zu NPG immerhin noch fast 3 : 1. Derselbe Quotient findet sich übrigens auch für R. Das Maximum der Gewebskonzentrationen war am Tag 15 erreicht. Zu diesem Zeitpunkt wurde dem Hund die gesamte ALG-Menge verabfolgt, der Blutspiegel war jedoch schon wieder im Abnehmen begriffen. Dagegen liegen die höchsten Werte für die NPG-Gewebskonzentration bei Tag 33, also am Versuchsende. Hier sank der Blutspiegel von Tag 15 bis zu Tag 33 auf ein Fünftel ab, während E und R in diesem Zeitraum sogar einen Zuwachs um den Faktor 1,1, RHS um 1,3 erfuhren.
4. Die Konzentrationen des Dick- und Dünndarminhaltes liegen hingegen beim NPG-Kollektiv höher als bei den ALG-Hunden.

Bei Betrachtung der Gesamtgewebskonzentration zeigt sich nochmals dasselbe:

Tab. 7: Gewebsproteinkonzentrationen
in Prozent des jeweiligen Blutproteinspiegels.

	Tag	2	15	21	33	
Probe		ALG	ALG	NPG	ALG	NPG
	n	1	1	2	2	4
Blut		100	100	100	100	100
Milz		1	28	47	0	38
Leber		76	28	65	26	40
Lunge		41	80	60	21	93
Hilus-Lk.		3	24	38	50	93
Mesent.-Lk.		12	19	50	0	88
RHS	gesamt	133	179	260	97	352
Dünndarm		2	23	36	21	70
Dünndarminhalt		1	8	59	69	75
Nierenrinde		10	42	54	7	59
Nierenmark		4	178	81	0	67
Urin		489	740	21	336	73
Dickdarm		3	73	51	14	50
Dickdarminhalt		9	-	89	14	98
E	gesamt	518	1064	391	461	492
Haut + Haar		0	39	41	26	93
Schilddrüse		7	8	56	0	44
Skelettmuskel		0	14	26	0	44
Herzmuskel		4	-	68	0	35
R	gesamt	11	61	191	26	216
GgK*		363	756	873	365	914

* Gesamtgewebekonzentration
ohne Urin und Darminhalt

ALG findet sich am Tag 21 in annähernd gleicher Gewebskonzentration wie am Tag 2. Der höchste Wert liegt, so darf vermutet werden, zum Ende der Therapie (unsere Messung erfolgte am Tag 15). Bei NPG-Gabe steigt die Gewebskonzentration von Tag 15 bis 33 noch geringfügig an.

Zusammenfassung

1. ALG + NPG: an allen Tagen E +++; RHS ++, R +.
2. ALG: Maxima: Tag 15 für E, RHS und R
 Minima: Tag 21 für E, RHS und R.
3.

	Tag 21	Tag 15	Tag 33	
	Urin	Blut	E	GgK
ALG:	40	1	3	3
NPG:	1	4	1	1

: 5

Quotient
4. ALG: im Urin immer ++
 NPG: im Darminhalt immer +

GgK: Gesamtgewebskonzentration
+ : Konzentration erhöht

c. Tagesprofile

In Abbildung 7 ist der Verlauf des ALG-Spiegels im Blut eines Hundes (Nr. 8) nach einmaliger Injektion von 20 mg Protein pro Kilogramm Körpergewicht aufgezeigt und die Werte in Tabelle 8 (Nr. 8) zusammengestellt. Das Tier ist vorher weder mit ALG noch mit NPG behandelt worden.

Um Unterschiede im Verteilungsvolumen auszuschließen, ist erst der Wert 3 Stunden nach der Injektion gleich 100 % gesetzt.

Bereits 30 Minuten nach der ALG-Gabe liegt der Blutspiegel für ALG knapp über dem 3-Stunden-Wert (= 100 %). Das Maximum ist 120 Minuten nach der Injektion mit 108 % erreicht. Von dieser Höhe fällt die Proteinkonzentration langsam auf 75 % in der

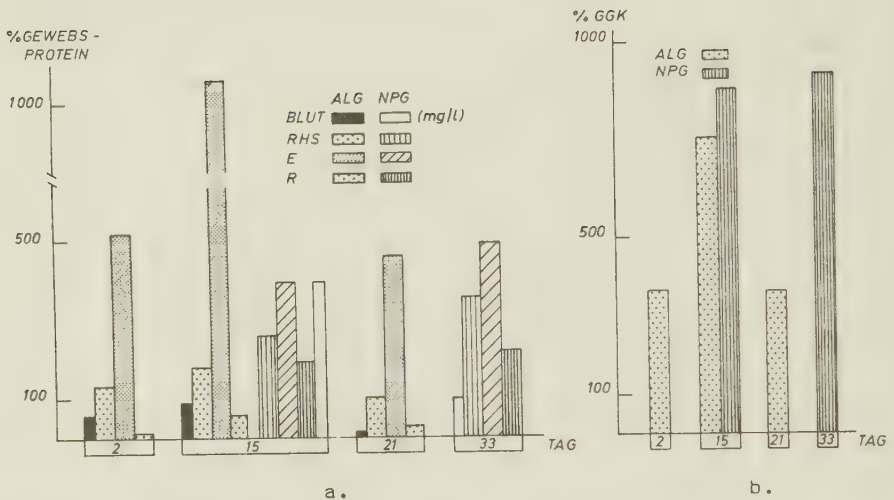


Abb. 7: Gewebsproteinkonzentrationen in Prozent der entsprechenden Blutspiegel.

- a. Einzeldarstellung der Organgruppen
- b. Zusammenfassung der Organgruppen ohne Berücksichtigung der Konzentrationen im Urin und Darminhalt.

12. Stunde post injectionem. Während der beiden folgenden Stunden werden hingegen allein 20 % des ALG's aus dem Blut eliminiert. Im weiteren Verlauf ist wieder ein leichter Anstieg zu verzeichnen, so daß sich 22 Stunden nach einer einmaligen ALG-Gabe annähernd die gleichen Werte finden wie 12 Stunden nach derselben.

Wird nach zwölftägiger Vorbehandlung mit NPG am 14. Tag erneut eine Dosis i.v. verabreicht, ist, wie Abbildung 8 zeigt, bereits nach einer halben Stunde die 100 %-Marke überschritten. Dieses Niveau wird gehalten, bis 4 Stunden nach der Injektion das Maximum mit 109 % erreicht ist. In weiteren 4 Stunden sinkt der Spiegel wieder auf 75 % ab. 14 Stunden nach Beginn ist - nach einem kurzen Anstieg zur 10. Stunde - mit 54 % das Minimum

Tab. 8: Tagesprofile
Restprotein in % des 3 Stunden nach der g-Globulin-
-Applikation gefundenen Wertes (3 h = 100 %).

TAGESPROFILE			
	ALG		NPG
Hund	8	3	4
Tag	1	14	14
h			
0	0	60	79
0,5	105	87	101
2	108		
3	100	100	100
4		91	109
6	88	91	91
8	90	84	75
10	83	91	84
12	75	80	70
14	53	73	54
16	55	79	
18	58	68	
20	60	63	
22	73	71	

erreicht. Vor der nächsten Messung verstarb der Hund an einem Atemstillstand.

Bei dem in gleicher Weise behandelten ALG-Hund ist der Konzentrationsanstieg wesentlich langsamer. Nach einer halben Stunde sind 87 % und erst nach 3 Stunden 100 % erreicht. Der weitere Verlauf ist durch eine gleichmäßige Abnahme bestimmt. Lediglich bei den Stunden 10, 16 und 22 sind geringe Zunahmen bis zu 7 % zu verzeichnen (Hund Nr. 3).

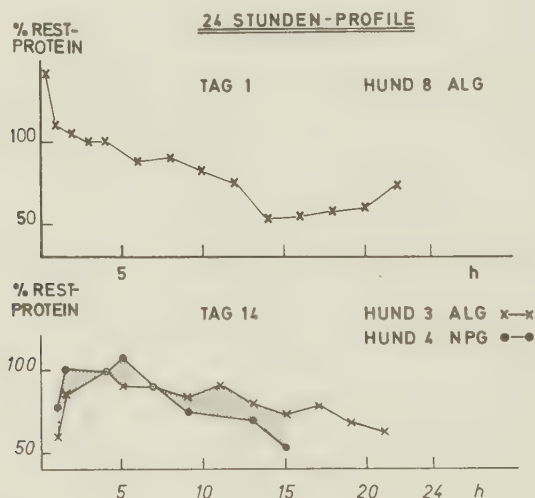


Abb. 8: Tagesprofile
Restprotein in Prozent des 3 Stunden nach der γ -Globulin-Applikation gefundenen Wertes (3 h = 100 %).

Der Verlauf beim NPG-behandelten Hund am Tag 14 ähnelt also dem des Hundes mehr, der nur eine einzige Dosis erhielt, während der über die gesamte Versuchsdauer von 12 Tagen mit ALG behandelte Hund sich deutlich von den beiden Letztgenannten unterscheidet.

D. DISKUSSION

Vor einer kritischen Erörterung der Ergebnisse seien die Kernfragen der durchgeführten Untersuchungen nochmals zusammengefaßt:

- a. Zeigen sich beim Hund Unterschiede zwischen den Blutkonzentrationen nach wiederholten Gaben gleicher Mengen heterologen ALG's und denen nach entsprechender NPG-Therapie?
- b. Lassen sich für ALG und NPG unterschiedliche Organaffinitäten oder Eliminationsmechanismen unter den genannten Bedingungen feststellen?

Da Reinheit, Antigenizität und immunsuppressive Potenz der verwendeten Seren bzw. deren Globulin eine erhebliche Rolle spielen, seien diese Punkte vor den eigentlichen Versuchsergebnissen diskutiert.

1. ALG - NPG: Herstellung und Eigenschaften

Prinzipiell scheinen alle lymphatischen Zellen als Immunisierungsmaterial in Frage zu kommen (57, 78, 87, 93). Besondere Antigenizität wird hierbei den Lymphocytenmembranen (7, 66, 74, 93) sowie einer mitochondrienreichen Lymphocytenfraktion (50) beigemessen. In der Praxis dürfte der Verwendung von Lymphocyten aus dem Ductus thoracicus als Immunogen der Vorrang einzuräumen sein. Sie vereinen trotz relativ aufwendiger Gewinnung mehrere Vorteile: es können leicht größere Mengen einheitlicher, vitaler Lymphocyten hoher immunologischer Aktivität (T-Zellen) (3, 15, 92, 108) gewonnen werden. Obwohl man durch Verwendung weitgehend einheitlicher Zellpopulationen keine monospezifischen Antiseren erhält (34, 87, 90), ist doch die Verunreinigung des Antigens mit Gewebsprotein bzw. Erythrozyten im Falle der Ductus-thoracicus-Drainage sehr gering. Der lympho-

penische Effekt dieser Maßnahme verstärkt zusätzlich die Unterdrückung der Immunantwort, wenn sie z.B. am behandelten Patienten ausgeführt wird, Wiederholte Absorption mit Hundeerythrozyten oder Verwendung eines Antierythrozytenserums erlauben es, die unerwünschten antierythrozytären Antikörper völlig zu eliminieren (3, 15, 16, 87, 88, 94), ohne die immunsuppressive Wirkung wesentlich zu verringern (56). Eine zusätzliche Absorption mit Organextrakten stellt eine weitere Möglichkeit dar, insbesondere die Nephrotoxizität zu vermindern. Dies schien bei den von uns verwendeten ALG jedoch nicht angezeigt, da es in anderen Versuchen keine toxischen Wirkungen erkennen ließ (83, 102).

Das Pferd als Serumtier zu verwenden, bot sich einmal wegen der von zahlreichen Arbeitsgruppen gemachten guten Erfahrungen an (3, 15, 16, 57, 87, 90, 92, 109), und zum anderen stand ein bereits grundimmunisiertes Tier mit hohen antilymphozytären Titern zur Verfügung.

Die Ammoniumsulfatfällung zur Fraktionierung ist längst zu einer Standardmethode geworden (27, 56). Der beim g-Globulin verbliebene Rest von b-Globulin hatte keinen Einfluß auf den Eliminations- bzw. Verteilungsmodus. Die NPG-Konzentrationen der mit b-Globulin-haltigem NPG behandelten Hunde (Nr. 4, 7) lagen sowohl im Blut als auch in den Organen innerhalb der Streuung der mit hochgereinigtem NPG therapierten Tiere Nr. 9, 10, 11 und 12. Das legt die Überlegung nahe, daß die Masse des Globulins dem Mechanismus unterworfen ist, der durch die Spezifität induziert wird, d.h., das Vorhandensein oder Fehlen von etwa 30 % heterologen b-Globulins beeinflusst in unserer Anordnung die Ausscheidung und Verteilung des NPG nicht wesentlich. Treten jedoch bei gleichem b-Globulin-Anteil im Falle des ALG noch spezifische Antikörper an g-Globulin-Molekülen des 7-S-Fraktion auf (60, 120), so wird sowohl die Elimination als auch die Organaffinität signifikant verändert. Die Titer lymphozytotoxischer Antikörper, die im ALS bzw. ALG gefunden wurden, entsprechen im Wesentlichen den in der Lite-

ratur gemachten Angaben (7, 15, 16, 57, 87, 109). Das Gleiche gilt für den Proteingehalt der verwendeten Präparate (45, 47).

Betrachtet man die Kinetik eines immunsuppressiven Medikaments, wird man nicht umhinkönnen, der tatsächlichen Wirkung auf das Immungeschehen eine bedeutende Rolle beizumessen. Beim Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren (1, 24, 57, 84, 87, 89, 92, 111) muß das von uns verwendete ALG als hochwirksam gelten. PFEIFER et al. und v. SCHEEL (83, 106) erzielten hiermit eine Verlängerung der Überlebenszeit xenogen transplantiert Fuchsnieren bei Hunden um $9,5 \pm 2,3$ Tage. Dies bezieht sich auf unbehandelte Kontrollen. Nach ABAZA und JAMES (1, 57) zeigt NPG an isogen transplantierten Hundenieren praktisch keine Verlängerung. Damit können die unbehandelten Tiere diesbezüglich mit NPG-behandelten gleichgesetzt werden.

Wir fanden in der von uns gewählten Versuchsanordnung in sämtlichen überprüften Parametern ein signifikant unterschiedliches Verhalten der ALG-Gruppe von der NPG-Gruppe. Dies trat auf, obwohl hinsichtlich der Dosierung, der Therapiedauer usw. beide Kollektive völlig gleich behandelt wurden. Wir erklären die gefundene Diskrepanz im Wesentlichen mit der unterschiedlichen Antigenizität beider Substanzen.

Im Folgenden sind die eigenen Beobachtungen Ergebnissen aus der Literatur gegenübergestellt.

2. Veränderungen an lymphatischen Zellen und Granulozyten

Wir sahen eine ausgeprägte numerische Reduktion kleiner Lymphozyten in der Pulpa und den kortikalen Abschnitten von Mesenterial- und Hiluslymphknoten mit deutlicher Vermehrung von Plasmazellen und Blasten bei reger mitotischer Aktivität in der Rinde. Auch in der Milz stand eine deutlich erhöhte Plasmazellzahl den in der Pulpa verringerten Follikelzahlen und verkleinerten Keimzentren gegenüber. Diese Beobachtungen dek-

ken sich mit zahlreichen in der Literatur angegebenen Befunden (56, 74, 75, 93).

DENMAN und FRENKEL (29, 30) sowie JEEJEEBHOY (62) und Andere zeigten, daß ALG im lymphatischen Gewebe eine gewisse stimulierende Wirkung hat. Auch wurde vermehrte Proliferation der Lymphozyten mit Umwandlung in plasmazell-ähnliche Elemente beobachtet. TURK et al. und HUMPHREY et al. (55, 114) beschreiben hingegen für die thymusabhängigen parakortikalen Gebiete peripherer Lymphknoten eine Zellverarmung ohne Veränderung der Lymphfollikel und ohne Plasmazellproliferation. PICHLMAYR (87) sieht ähnliche Bilder.

Der Zusammenhang zwischen intravasal-lymphopenischem bzw. lymphozytotoxischem Effekt von ALG und seiner immunologischen Wirkung wird sehr unterschiedlich gesehen. JAMES et al. (59) findet Unterschiede bei Verwendung von Antiseren verschiedener Tier-Spezies. HIROSE (50) hält ihn für eine Nebenwirkung, JEEJEEBHOY (61) kann zwischen den beiden Faktoren eine nur lose Korrelation beobachten. TREPEL (116) und WOODRUFF (120) halten nur eine ausschließliche Wirkung über die Lymphozytenzerstörung nicht für gegeben. BACH sowie GUTTMANN et al., PICHLMAYR und REIS (4, 48, 87, 99) räumen dem lymphozytotropen Effekt ebenso eine erhebliche Rolle ein.

Ziemlich einheitlich wird die Ansicht vertreten, daß in erster Linie zirkulierende Lymphozyten dem Angriff durch ALG ausgesetzt sind (17, 64). Hierbei sollen insbesondere die langlebigen, PHA-stimulierbaren Lymphozyten (8, 99) getroffen werden bzw. diejenigen, die rezirkulierend in die Lymphknoten sequestrieren (68), also jener Zellpopulation, die für den zellulären Typ der Immunantwort entscheidend sind. Die histologischen Bilder der an kleinen Lymphozyten verarmten Parakortikalzonen von Lymphknoten und periarteriolen Gebiete in der Milz unterstützen derartige Überlegungen (82, 114). REIS (99) weist darauf hin, daß es sich hierbei hauptsächlich um thy-

musabhängige T-Zellen handelt. Im Mark und den Keimzentren der Lymphknoten ebenso wie in Milzfollikeln überwiegen Zellen, die im Gegensatz zu den T-Zellen für den Ablauf der humoralen Immunantwort von Bedeutung sind. Ein Stimulus für ihre Proliferation ist beispielsweise eine länger dauernde ALG-Therapie. LANCE schreibt das Ansteigen der peripheren Lymphozytenzahlen einem vermehrten Auftreten von B-Zellen zu (65).

LAND et al. (72, 73) und RUDOLPH et al. (102) führten bei in vitro mit ALS inkubierten Lymphozyten elektronenoptische Studien durch. Bereits nach 6 Stunden sahen sie ergastoplasma-reiche große Lymphozyten bzw. deren Relikte. BRENDEL (14) beschreibt bei ALG-therapierten Patienten große, bizarr geformte Zellen, die möglicherweise den oben Beschriebenen entsprechen. Interessanterweise traten derartige Veränderungen bei NPG-inkubierten Lymphozyten nicht auf (73, 91).

In den eigenen Blutaussstrichen fand sich ebenfalls nur in der ALG-Gruppe eine erhebliche Anzahl schwer einzuordnender Leukozyten, die wir als entdifferenzierte oder geschädigte Lymphozyten einreichten.

Das von uns beobachtete Verhalten der Granulozyten und Lymphozyten wird durch ähnliche Ergebnisse in zahlreichen Publikationen bestätigt (3, 73, 91, 92, 115). NPG nimmt auf beide Zellpopulationen praktisch keinen Einfluß. Der unter ALG-Therapie beobachtete starke Anstieg des Granulozytenspiegels vom 5. Behandlungstag an wird folgendermaßen erklärt:

Durch das ALG kommt es in den ersten Tagen zur einheitlichen Zerstörung einer entsprechenden Anzahl von Zellen. Die numerische Reduktion bedeutet für das granulopoetische System einen adäquaten Reiz, der es zu höchster Regenerationsleistung zwingt. Die Reaktion ist überschießend, d.h., es werden in unseren Versuchen bis zu 2,5 mal mehr Zellen neu gebildet oder freigesetzt als eliminiert werden. Dieser Effekt hält bis 3 Tage nach der letzten ALG-Gabe an, dann nimmt er ab (s. Abb. 1

und Tab. 1).

Völlig anders verhält sich das lymphatische System: Hier erfolgt die Zerstörung selektiv (101). Nur zirkulierende (17, 64), langlebige (8), thymusabhängige (55, 115) Lymphozyten werden erreicht. Wie RUDOLPH et al. (101) in vitro zeigen konnten, scheint der Teil der Lymphozyten, der den ersten Kontakt mit ALG unbeschadet überstanden hat, auch weiterhin dagegen gefeit zu sein. MILLER et al. (55) postulieren multiple Rezeptoren an den Lymphozyten. Andere Beobachtungen (8, 64) legen die Vermutung nahe, daß ein anderer Teil, nämlich die kurzlebigen, kleinen Zellen, nur unvollständig supprimiert wird. Sie sequestrieren zusammen mit angeschlagenen, ALG-beladenen Zellen in die lymphatischen Organe, um sich dort in Immunozyten bzw. Plasmazellen zu verwandeln (8). So bleibt selbst bei hochgradiger Lymphopenie ein gewisser Infektionsschutz übrig (89). Der Großteil wird wohl der Phagozytose anheimfallen, sei es durch die opsonisierende Wirkung (5), durch direkte Anlagerung an Makrophagen (5) oder durch Adhärenz an Monozyten, die sich sekundär zu Makrophagen umgestalten (53).

Die selektive Reduktion der Blutlymphozyten hat also weniger eine zahlenmäßige Regeneration, sondern vielmehr qualitative Veränderungen zu anderen Zelltypen der lymphatischen Reihe zur Folge. Ein gewisser Lymphozytenspiegel kann deshalb auch bei massiver ALG-Zufuhr erwartet werden. Dieser Zustand bleibt erhalten, solange entweder ALG von außen zugeführt (91) oder nach und nach aus dem Gewebe wieder freigesetzt wird (56, 99). In unseren Untersuchungen haben die Blutlymphozyten 9 Tage nach Beendigung der ALG-Zufuhr den Ausgangswert noch nicht ganz erreicht (s. Abb. 1 und Tab. 2).

3. Sensibilisierung der Hunde durch Pferdeprotein

Bei einer längerdauernden Gabe xenogenen Proteins ist damit zu rechnen, daß die so behandelten Tiere sensibilisiert werden

und nach einigen Tagen mit der Produktion von Antikörpern beginnen, die gegen das artfremde Eiweiß gerichtet sind (55). Die Höhe des Antikörpertiters wird mit der Antigenzufuhr in einer gewissen zeitlichen und quantitativen Korrelation stehen und noch lange Zeit nach Beendigung der Proteingaben zu verfolgen sein.

Soweit einige theoretische Überlegungen, die im Wesentlichen in den eigenen Ergebnissen bestätigt wurden. Zwei Merkmale der in Abbildung 2 und Tabelle 3 dargestellten Titerstufen, die bei der aktiven Hämagglutination von Pferdeerythrozyten durch die Seren der ALG- bzw. NPG-therapierten Hunde gefunden wurden, lassen sich damit jedoch nicht erklären: Warum findet sich ein höherer Titer vor Behandlungsbeginn als nach den ersten Injektionen des Pferdeglobulins? Und wie ist der erheblich steilere Anstieg der Titerstufen nach ALG- als nach NPG-Therapie zu erklären, obwohl ALG als Immunsuppressivum die Antikörperbildung negativ beeinflussen müßte?

Es gilt heute als gesichert, daß Tiere einer Spezies sogenannte natürliche präformierte Antikörper besitzen, die gegen spe-ziesfremdes Antigen wie z.B. Erythrozyten oder lösliche Proteine gerichtet sind.

Das Auftreten der Spontantiter bei den noch unbehandelten Hunden ließe sich so mit dem Vorhandensein gegen "Pferd" gerichteter Xenohämagglutinine erklären (112). HAMMER (49) konnte im System Hund-Schwein bzw. Hund-Schaf durch die Perfusion von Schweine- bzw. Schafsnieren solche Antikörper absorbieren. Einer Absorption präformierter natürlicher Antikörper durch lösliches ALG- bzw. NPG-Protein ließe in unserer Spezieskonstellation auch ein Absinken der Titer gegen Pferdeerythrozyten erwarten. Erst wenn nach einigen Tagen die Stimulation des lymphatischen Systems mit Umwandlung sensibilisierter Lymphozyten in Plasmazellen erfolgt ist (79), nimmt der Antikörpertiter wieder zu. Die Menge dieser provozierten Antikörper liegt über

dem Spiegel der anfangs vorhandenen natürlichen präformierten Antikörper. Dies wäre um den 6. Tag zu erwarten und deckt sich mit unseren Befunden sowohl in Bezug auf den Titerverlauf des aktiven Hämagglutinations-Tests als auch auf die histologischen Veränderungen in Milz und Lymphknoten.

Da LANCE (66) zeigen konnte, daß Lymphozyten, die mit Kaninchen-ALS absorbiert wurden, auch noch in der Lage waren, Pferde-ALS zu absorbieren, ist daran zu denken, daß selbst auf die Wirkung spezifischer Antikörper Speziesunterschiede einen nicht unerheblichen Einfluß nehmen.

BRONDZ et al. (13) fanden, daß die Bildung von AG-AK-Komplexen einen aktiven Vorgang mit Proteinsynthese darstellt. Außerdem sind von stimulierten Lymphozyten gebildete Immunproteine in erster Linie gegen das Immunogen, z.B. das stark stimulierende ALG, gerichtet (2). Einerseits verbindet sich ALG sehr schnell mit Lymphozytenmembranen und bildet Komplexe höchster Antigenizität (21, 52, 58). Andererseits bietet es, an der Oberfläche "dendritischer Makrophagen" (53, 54, 95) fixiert, eine große Kontaktmöglichkeit mit sensibilisierten Zellen und regt sie dadurch zur Antikörperproduktion an. Ferner nimmt die Immunogenizität mit steigender Molekülgröße zu (42).

ALG wirkt somit mehrfach steigend auf die Induktion von Antikörpern gegen sich selbst (Antidot-Effekt).

Es stimuliert Lymphozyten zur Umwandlung in potentiell AK-produzierende Zellen. Es regt sensibilisierte Zellen zur Ausschüttung von Antikörpern an und es bildet mit diesen sowie mit Lymphozyten große Komplexe höchster Antigenizität.

NPG hingegen verhält sich Lymphozyten gegenüber weitgehend indifferent und bildet keine Komplexe solcher antigener Wirksamkeit. Außerdem übt es einen derart proliferativen Effekt auf das lymphatische System nicht aus, d.h., NPG ist gegenüber

ALG nur als schwaches Immunogen anzusprechen (58). In unseren Versuchen bewirkte ALG bei der aktiven Hämagglutination einen bis doppelt so hohen Antikörpertiter.

Wie klinische und experimentelle Daten zeigen, entfaltet ALG zwar trotz dieses Antidot-Effektes auch bei erhöhter Elimination (21) eine gewisse immunsuppressive Wirkung (58, 96, 121). Die Gefahr, die jedoch von den Anti-ALG-AK ausgeht, ist erheblich, da dieser Mechanismus auch für das Auftreten anaphylaktischer Reaktionen verantwortlich zu machen ist.

Die Einbuße an Effizienz läßt sich jedoch nicht durch einfache Dosissteigerung beheben, wie BERENBAUM et al. (11) und BUTLER et al. (21) ausführten. Bei i.m.-Applikation wäre die Antigenizität zwar geringer, aber abgesehen von der erheblichen Schmerzhaftigkeit ist die Chance, an die "Target-Zellen", die zerstört werden sollen, zu kommen, bei i.v.-Gabe unverhältnismäßig größer (12, 21).

Die Bildung der die Antidot-Wirkung hervorruhenden Anti-ALG-AK als humoraler Mechanismus geht, wie oben gezeigt, zu Lasten der kurzlebigen B-Lymphozyten. Da ALG kaum in der Lage ist, Letztere zu supprimieren, ist es auch nicht möglich, daß der Antidot-Effekt durch ALG selbst aufgehoben wird (22, 55). Eine Wirkungssteigerung läßt sich aber nur dadurch erreichen, daß die Antikörperbildung gegen ALG verhindert oder reduziert wird. Diesbezügliche Möglichkeiten bieten einmal pharmakologische Immunsuppressiva wie Azathioprin, Kortikoide u.Ä.; zum anderen immunologische Maßnahmen wie z.B. Toleranzinduktion gegen das verwendete Fremdprotein bzw. Kombination der beiden Mechanismen (20, 21, 51, 62, 96, 100, 119).

4. Verlauf der Proteinspiegel

a. Isotopentechnik

In einer großen Zahl klinischer und experimenteller Untersuchungen wurden radioaktiv markierte Proteine eingesetzt, um das Verhalten der Eiweißkörper zu studieren (20, 21, 22, 29,

30, 48, 58, 81, 97, 100, 105, 107).

COHEN et al. (25), FRANCIS et al. (35), FRANKS et al. (36), FRICK et al. (38) und ZAPPACOSTA et al. (122) konnten überzeugend darstellen, daß sich z.B. mit I^{131} gelabelte Proteine praktisch genau so verhalten wie ihre nativen Entsprechungen.

Die Markierungstechnik, der unsere g-Globuline unterworfen wurden, ermöglicht den Einbau von etwa 2 Jodatomen pro Molekül Eiweiß. Das ist eine Aktivitätsdichte, die sicher ausreicht, um immunologische und andere biologische Vorgänge zu verfolgen (35). Das angebotene I^{131} ist zu über 99 % utillisiert, das bedeutet einen äußerst geringen Verlust an radioaktivem Material einerseits und andererseits eine sehr kleine Störgröße durch freies Jod (98).

Metabolische Verschiedenheiten sind zwischen NPG und ALG nicht anzunehmen (28). Unterschiede im Ergebnis, die durch das Auftreten von Spaltprodukten zustande kämen, wären somit als biologisches Charakteristikum des entsprechenden g-Globulins durchaus mit dem Ziel der Untersuchungen in Einklang zu bringen. Diese Überlegung wird auch dadurch bekräftigt, daß sich die Ergebnisse aus der Immundiffusionsbestimmung weitgehend mit den isotopentechnisch gewonnenen decken. Da Letztere durchwegs etwas höher ausgefallen sind, liegt es nahe, diese Differenz dem Vorhandensein markierter Proteinbruchstücke zuzuschreiben, die mit der MANCINI-Technik nicht erfaßt werden.

b. ALG- und NPG-Konzentrationen im Blut

Die eindrucksvollsten Befunde unserer Untersuchungen waren einmal eine erheblich geringere Ansammlung von ALG im Blut: bei gleicher Dosierung lag das Maximum für ALG um etwa $2/3$ unter demjenigen der NPG-Konzentration; zum anderen erfolgte die Blutclearance im Falle des NPG wesentlich langsamer. So wurde, z.B. am Tag 15, 72 Stunden nach Beendigung der ALG-Therapie, ein Proteinspiegel von 89 mg ALG pro Liter Vollblut

gefunden. Dieser Betrag trat in der NPG-Gruppe erst 14 bzw. 21 Tage nach der letzten Injektion auf. Damit betragen die Halbwertszeiten für ALG 2,12 Tage, für NPG 6,25 Tage (s. Abb. 4 und 5). Diese Werte entsprechen den von anderen Autoren beschriebenen Eliminationsraten. Für ALG ist $t/2$ mit 1 - 2 Tagen angegeben, was einer Immunelimination entspricht. NPG hingegen weist als Nichtimmuneliminationstyp $t/2$ mit 5 - 6 Tagen auf (20, 21, 99, 105, 107).

GÜNTHER (46) gibt für die Immunglobuline IgM und IgA, die zusammen etwa 25 % des g-Globulins ausmachen, beim Menschen eine tägliche Abbaurate von etwa 13 % an. Die verbleibenden 75 % IgG werden mit nur 1-6 % täglich katabolisiert. Damit wäre der steilere Abfall des g-Globulin-Spiegels während der ersten Tage nach den letzten Proteingaben, wie wir ihn beobachten konnten, erklärbar (s. Abb. 4).

Diese Erscheinung trat beim NPG, in verstärktem Maße jedoch beim ALG, auf. Für beide Gruppen sind während dieser Zeit auch die Differenzen der relativen Proteinreste (P_r/t) erhöht (Tab. 6).

Wie CLARK (22) zeigen konnte, wird trotz schnellerer Ausscheidung von ALG die hohe immunsuppressive Wirkung aufrecht erhalten. Das läßt annehmen, daß der immunsuppressive Effekt bereits zum Tragen kommt, noch bevor die verstärkte Elimination anläuft. Tatsächlich fand LANCE (67), daß die antilymphozytären Antikörper bereits wenige Stunden nach Exposition an Lymphozyten absorbiert sind. Da aber höchstens 3 % der Proteinmenge dieser AK-Klasse zuzuschreiben sind, muß vermutet werden, daß der größte Teil einer verstärkten Metabolisierung bzw. der Elimination durch ALG-AK-Komplexe anheimfällt (21, 29, 30). Das dürfte auch der Grund dafür sein, daß unser NPG trotz unterschiedlichem b-Globulin-Anteil gleich eliminiert wurde.

Auch die eigenen Ergebnisse deuten darauf hin:

Die Lymphozyten sinken bereits 24 Stunden nach der ersten

ALG-Gabe auf 30 % des Ausgangswertes ab. Die Granulozyten - als Ausdruck einer erhöhten RHS-Aktivität - und die Sensibilisierung gegen Pferdeprotein nehmen dagegen um den 6. Versuchstag stark zu. Zum selben Zeitpunkt ist im ALG-Verlauf ein Sistieren der Zuwachsrates zu verzeichnen.

Bei den NPG-behandelten Hunden bleibt der Granulozyten- und Lymphozytenverlauf weitgehend unbeeinflusst; die Sensibilisierung nimmt langsamer zu und ist schwächer.

Als Folge davon ist daher zu sehen, daß der Streckenzug für die NPG-Konzentration im Wesentlichen qualitativ mit der theoretischen Kurve P_t (Abb. 3) übereinstimmt. Dieselbe Tendenz zeigt sich bei den Tagesprofilen, wo eine stärkere Korrelation zwischen NPG- und unvorbehandeltem Hund als zwischen ALG-therapiertem und unvorbehandeltem Hund zu erkennen ist.

c. ALG- und NPG-Konzentration im Gewebe

Erstmals gelang es FREI 1962 (37), nachzuweisen, daß Human-g-Globulin die Eigenschaft hat, sich an Organgeweben zu fixieren. In zahlreichen Arbeiten wurde gezeigt, daß auch xenogene g-Globuline diese Fähigkeit haben. Dabei ist eine erhöhte Affinität gegenüber Leber- und insbesondere Nierengewebe festgestellt (22, 28, 48, 56) und im ALG eine Vielzahl verschiedener AK nachgewiesen worden, die gegen Organextrakte gerichtet sind bzw. sich mit Organextrakten absorbieren ließen (34, 48, 56, 74, 80).

Der unterschiedlichen Anhäufung in den einzelnen Organsystemen liegen sicher mehrere, sich überlagernde Faktoren zugrunde. So finden sich z.B. in Nierengewebe einerseits Abbauprodukte aus dem Eiweißstoffwechsel (22, 28, 76, 117), andererseits aber auch auf Grund spezifischer, gegen Glomerula oder Basalmembranen gerichteter AK bzw. AG-AK-Komplexe (22, 48, 56, 80). Es wird angenommen, daß es sich dabei um kreuzreagierende AK handelt (23, 80).

Durch die blockierende Wirkung, die ALG auf das RHS ausübt,

ist eine Kumulation von Aktivität innerhalb dieses Systems verständlich (44, 95, 103, 107).

Eine weitere Möglichkeit, markiertes ALG in spezifische Gewebeprovinzen zu verschleppen, ist durch die Sequestration angeschlagener oder ALG-beladener Zellen gegeben (99). Umgekehrt zeigt sich eine signifikante Verteilungsänderung gelabelter Lymphozyten unter der Einwirkung von ALG (104, 106).

Wir fanden, nicht unerwartet, in den Organen der Gruppe "Exkretion" stets die höchsten Aktivitätskonzentrationen, gefolgt vom RHS. Dieser Befund war unabhängig vom Zeitpunkt der Organentnahme. Interessant scheint, daß bei NPG-behandelten Tieren die gefundenen Aktivitäten im Darminhalt, bei den ALG-Hunden hingegen im Urin höher waren. Das mag im Vorhandensein kreuzreagierender, gegen Nierengewebe gerichteter AK begründet sein. Die Möglichkeit, daß Immunkomplexe einer stärkeren nephrogenen Ausscheidung unterliegen als NPG-Metabolite, bleibt offen.

5. Anwendung von ALG in der Klinik

a. Anwendungsbereich

Bei der Therapie organtransplantierte Patienten hat ALG in zahlreichen Fällen eine akute Abstoßungsreaktion erfolgreich verhindert oder durchbrochen. Es sei, wie auch im Folgenden, nur auf einige Angaben aus der Literatur verwiesen (16, 70, 85, 86). Bei humoraler Immunantwort wie der hyperakuten oder chronischen Transplantatabstoßung erscheint ALG nicht indiziert.

Großflächig Verbrannte, deren Epitheldefekte mit allogener Haut gedeckt wurden, konnten einer ALG-Therapie zugeführt werden (26). Auch bei Knochenmarkstransplantationen diente ALG zur Unterdrückung immunologischer Mechanismen (116).

Für die klinische ALG-Therapie stellen die Autoimmunerkrankungen einen ganz erheblichen Bereich dar. Viele von ihnen

wurden dadurch einer effektiven Behandlung erst zugänglich gemacht (18, 39, 69, 71, 85).

Schließlich eröffnet die Tumorummunologie neue Anwendungsmöglichkeiten.

b. Wirkungsmechanismen

Dieser Punkt will keine detaillierten Angaben und umfassende Auskünfte geben. Es soll lediglich ein kurzer Abriss der derzeit diskutierten Theorien vermittelt werden:

aa. Lymphozytenverarmung

Hierbei handelt es sich um eine selektive Verminderung peripherer Lymphozyten. Als wirksame Mechanismen gelten z.B. die direkte Zytotoxizität durch Komplement, bei der Toxine eingreifen. Weiterhin die Opsonisation, bei der unter Beteiligung von Komplement die Lymphozytenoberflächen derart verändert werden, daß sie der Phagozytose, z.B. durch Makrophagen, anheimfallen.

bb. "blindfolding"

ALG-Partikel sind, wie man in Immunfluoreszenzbildern sieht, an den Lymphozytenmembranen fixiert. Dadurch ist ihnen die Möglichkeit der Antigenerkennung genommen. Sie sind "erblindet".

cc. Sterilaktivierung

Lymphozyten sollen durch Blastentransformation ihre antigenbezogene Reaktionsfähigkeit verlieren.

dd. Antigen-Wettbewerb

ALG als starkes Antigen induziert AK-Produktion gegen sich selbst. Die Immunantwort gegen ein weiteres Antigen soll deshalb schwächer ausfallen.

ee. Enhancement, Stimulation der Nebennierenrinde, Induktion eines Thymusfaktors, RHS-Depression und antikomplementäre Wirkung seien nur erwähnt.

Mit der Zytotoxizitätstheorie aa. lassen sich derzeit die meisten Phänomene erklären. Sie wird z.B. von BACH und RIES (4, 99)

für die Wahrscheinlichste gehalten.

c. Nebenwirkungen

Der Einsatz von ALG in der Klinik wird durch eine Palette unerwünschter bis lebensbedrohender Nebenwirkungen erschwert, in manchen Fällen unmöglich gemacht.

Die Reaktionen reichen von lokalen Erscheinungen an den Injektionsstellen über die Wirkung pyrogener Stoffe oder Endotoxine, die Suppression hämatopoetischer Systeme und die schädigenden Einflüsse durch kreuzreagierende Antikörper bis hin zum begünstigten Entstehen von Neoplasmen, zum "wasting disease" und der "graft versus host" Reaktion.

Die meisten dieser Störungen sind Ausdruck einer Sensibilisierung gegen das Fremdprotein. Sie beeinflussen nicht nur das Befinden des Patienten, sondern auch die immunologische Wirksamkeit von ALG (4, 13, 14, 70, 86, 89, 90, 93, 110, 120). Ein wesentliches Anliegen der ALG-Forschung muß es daher sein, die Zusammenhänge mit den auslösenden Faktoren aufzudecken und geeignete Maßnahmen zu entwickeln, die eine risikolose und einfache Behandlung mit ALG erlauben.

d. Möglichkeiten der Wirkungsverbesserung

Im Wesentlichen bieten sich hierbei zwei Wege. Es kann einmal versucht werden, dem ALG selbst seine Toxizität bzw. Immunogenizität zu nehmen oder sie zu verringern. Zum anderen werden Bemühungen nötig sein, die immunologische Antwort auf das fremde Eiweiß so gering wie möglich zu halten.

Ersteres kann z.B. dadurch erreicht werden, daß Seren hoher Reinheit herzustellen sind oder die Proteinmenge, die verabreicht werden muß, allein auf die wirksamen Fraktionen zu beschränken. Eventuell wird es auch möglich werden, antigene Strukturen zu kaschieren und somit ungefährlich zu machen. Beim Beschreiten des zweiten Weges bietet es sich zunächst an, die Antikörperbildung durch weitere immunsuppressive Maß-

nahmen zu verhindern. Insbesondere die Kombination mit Azathioprin und Kortikoiden, die Lymphdrainage oder die Hämodilution seien genannt (2, 44, 62, 103, 119).

Als weitere wesentliche Maßnahme ist die Induktion partieller oder totaler Immuntoleranz bereits über das Stadium experimenteller Arbeit hinaus (20, 21) und hat erfolgversprechende Ergebnisse gezeigt.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Der Verlauf von Blutkonzentrationen wiederaufgefundenen g-Globulins bei längere Zeit ALG-behandelten Hunden wurde dem unter NPG-Therapie gegenübergestellt. Außerdem wurden zu verschiedenen Zeitpunkten die Aktivitäten gemessen, die sich in 16 verschiedenen Organen nach Gabe von I¹³¹-markiertem ALG bzw. NPG einstellten.

Zwischen den beiden Gruppen bestehen hochsignifikante Unterschiede in Bezug auf den zu erreichenden Blutspiegel, die Eliminationsrate und die Organverteilung.

Es wurde versucht, an Hand der Literatur das unterschiedliche Verhalten zu erklären. Als Schlußfolgerung für die klinische Anwendung ergibt sich der Gebrauch hochgereinigter ALS-Fractionen zusammen mit weiteren Maßnahmen zur Verhinderung der Antikörperbildung gegen ALG: einmal die Kombination mit Medikamenten, welche die humorale Immunantwort unterdrücken, und zum Anderen die Induktion von Toleranz gegen ALG.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABAZA, H.M.; B. NOLAN;
J.G. WATT;
M.F.A. WOODRUFF
Effect of antilymphocytic serum on
the survival of renal homotrans-
plants in dogs.
Transplantation 4, 618 (1966)
2. ASTALDI, G.;
J. LISIEWICZ
Protein metabolism in lymphocy-
tes.
Boll.Ist.Sieroter, Milanese
50, 1 (1971)
3. BACH, J.-F.
Les sérums antilymphocytes. I.
Europ.J.Clin.Biol.Res. 1, 28 (1970)
4. BACH, J.-F.
Les sérums antilymphocytes. II.
Europ.J.Clin.Biol.Res. 3, 258
(1970)
5. BACH, M.K.;
J.R. BRASHLER;
R.J. PERPER
Lymphocytophilic antibody titer as
a correlative assay for the immuno-
suppressive activity of antilym-
phocytic serum.
Transplantation 9, 49 (1970)
6. BARADUN, S.
Die Gammaglobulin-Therapie.
Bibl.Haemat.Fasc.
Basel-New York: Karger 1964
7. BARNES, A.D.;
C. DICKERSO;
R.J. HAWKER
The production of antilymphoblast
Globulin for clinical use.
Behring Inst.Mitt. 51, 66 (1972)
8. BARNES, C.A.;
P.L.T. ILBERY;
A.B. RICKINSON
Form and function of the lymphocyte
as a radiation dosimeter and an in-
dicator of immunosuppression.
Med.J.Australia 1, 369 (1971)
9. BARTEL, H.
Statistik I.
Stuttgart: G. Fischer 1971
10. BARTEL, H.
Statistik II.
Stuttgart: G. Fischer 1971
11. BERENBAUM, M.C.;
L. BRENT; P.J. KILSHAW
The therapeutic significance of
the dose response curve for anti-
lymphocytic serum.
Transplantation 12, 18 (1971)

21. BUTLER, W.T.;
R.D. ROSSEN;
M.A. REISBERG;
J.B. MAZOW;
J.J. TRENTIN;
K.P. JUDD
Antibody formation to equine anti-lymphocytic globulin (ALG) in man: effect on absorption, distribution and effectiveness of ALG.
J.Immunol. 1, 1 (1971)
22. CLARK, J.G.; K. JAMES;
M.F.A. WOODRUFF
Elimination of normal horse IgG labelles with iodine-131 in rats receiving horse anti-rat lymphocytic IgG.
Nature 215, 869 (1967)
23. CHRISTIAN, H.A.;
T.E. LEEN
Some further observations on leucocytotoxins.
Boston med.surg.J. 152, 397 (1902)
24. CLUNIE, G.J.A.;
B. NOLAN; K. JAMES;
J.G. WATT;
M.F.A. WOODRUFF
Prolongation of canine renal allografts with anti-lymphocytic serum.
Transpl. 6, 459 (1968)
25. COHEN, S.; T. FREEMAN;
A.S. McFARLANE
Metabolism of I-131 labelled human albumin.
Clin.Sci. 20, 161 (1961)
26. DIETHELM, A.G.;
A. DIMICK; J.F. SHAW;
H. BAKER; S. WILSON
Management of a severely burnt child utilizing skin allografts modified by equine antilymphocyte globulin.
Behring Inst.Mitt. 51, 144 (1972)
27. DIETZEL, E.;
H. GEIGER
Gewinnung und Eigenschaften therapeutisch wichtiger Humanplasmaproteine.
Behring Inst.Mitt. 43, 129 (1964)
28. DIGGELMANN, H.;
H. KOBLET; H. GERBER;
S. BARANDUN
Bestimmung der totalen Clearance von Standard-Gammaglobulin, pH-4-Gammaglobulin und Gamma-Venin.
Path.Microbiol. 27, 572 (1964)
29. DENMAN, A.M.;
E.P. FRENKEL
I. The distribution of rabbit anti-lymphocyte globulin injected into rats and mice.
Immunology 14, 107 (1968)
30. DENMAN, A.M.;
E.P. FRENKEL
II. Changes in the lymphoid cell population in rats treated with antilymphocyte globulin.
Immunology 14, 115 (1965)

31. DIGITAL EQUIPMENT Introduction to programming.
pdp-8, Handbook series, Maynard,
Mass. 1972
32. DIGITAL EQUIPMENT Programming languages.
pdp-8, Handbook series, Maynard,
Mass. 1972
33. DIGITAL EQUIPMENT Laboratory computer handbbok.
pdp-8, Handbook series, Maynard,
Mass. 1972
34. FATEH-MOGHADAM, A.;
KNEDEL, M.;
R. PICHLMAYR;
Ch. MORELL Zur Frage der Antikörperspezifi-
tät von heterologem Antilymphocy-
tenserum.
Klin.Wschr. 20, 1092 (1968)
35. FRANCIS, G.E.;
W. MULLIGAN;
A. WORMALL Labelling of proteins with iodine-
-131, sulphur-35, and phosphorus-
-32.
Nature 167, 748 (1951)
36. FRANKS, J.J.;
Y. TAKEDA; E.B. REEVE Preparation of autologous I-131-
-albumin for metabolic studies in
man.
J.Lab.Clin.Med. 4, 619 (1962)
37. FREI, P.P.C.;
S. CRUCHAUD Recherche sur la fixation de la
gammaglobuline humaine normal aux
tissus.
Helv.physiol.pharmacol.Acta
20, C 53 (1962)
38. FRICK, E.;
SCHEID-SEYDEL, L. Untersuchungen mit I-131-markier-
tem Gamma-Globulin zur Frage der
Abstammung der Liquoreiweißkörper.
Klin.Wschr. 15, 857 (1958)
39. FUCHS, J. Über die Behandlung der Sympathi-
schen Ophthalmie mit Antilympho-
zytenserum.
Klin.Monatsbl.Augenheilk.
6, 777 (1969)
40. GEIGY, J.R. - AG. Wissenschaftliche Tabellen.
Basel: J.R. Geigy S.A. 1968

41. GELLERT, W.;
H. KÜSTNER;
M. HELLWICH;
H. KÄSTNER
Großes Handbuch der Mathematik.
Köln: Verlagsges. Buch und Zeit
1967
42. GERHARTZ, H.
Die Immunreaktion.
Med.Klin. 66, 93 (1971)
43. GRASSMANN, W.;
K. HANNIG
Ein einfaches Verfahren zur Analyse
der Serumproteide und anderer Pro-
teingemische.
Naturwissenschaften 37, 496 (1950)
44. GROGAN, J.B.
Alterations in phagocytic function
of rats after treatment with anti-
lymphocyte serum.
J.Reticuloendothel.Svs. 6, 411
(1969)
45. GROTH, C.G.;
N. KASHIWAGIT;
G.E. MOORE; B.HUSBERG;
Chr. BJORKEN;
Ch.W. PUTNAM;
Th.E. STARZL
Production of a standardized anti-
lymphocyte globulin.
Behring Inst.Mitt. 51, 86 (1972)
46. GÜNTHER, D.
Grundlagen der Immunologie.
Dt.Ärztebl. 26, 1983 (1971)
47. GUTHÖHRLEIN, G.;
F.R. SEILER; K. HEIDE;
G. REBER; H.G. SCHWICK
Large scale production of horse an-
ti-human lymphocyte globulin (AHLG)
for clinical use.
Behringinst.Mitt. 51, 81 (1972)
48. GUTTMANN, R.D.;
CARPENTER, C.B.;
R.R. LINDQUIST;
J.P. MERRILL
An immunosuppressive site of action
of heterologous antilymphocyte se-
rum.
Lancet I, 249 (1967)
49. HAMMER, C.
Beeinflussung der hyperakuten xeno-
genen Abstoßungsreaktion ex-vivo
perfundierter Schweine- und Schafs-
nieren bei Hunden durch aktiv und
passiv erzeugtes Enhancement.
München: Dissertation 1972
50. HIROSE, Y.
Studies on the localization of anti-
gens relevant to anti-lymphocytic
serum.
Japan.J.Exp.Med. 6, 445 (1970)

51. HOPF, U.;
A. FATEH-MOGHADAM;
W. LAND; W. BRENDEL
Serologische Untersuchungen an Patienten unter Behandlung mit xeno-
genem Antilymphozytenglobulin.
Klin.Wschr. 15, 906 (1970)
52. HOWARD, R.R.S.;
N. ASFIS;
M.F.A. WOODRUFF
Comparative immunogenicity of an-
tilymphocytic globulin in solution
and adsorbed on lymphocytes.
Nature 220, 816 (1968)
53. HUBER, H.;
G. MICHLMAYR;
H.H. FUDENBERG
The effect of antilymphocyte glo-
bulin on human monocytes in vitro.
Clin.exp.Immunol. 5, 607 (1969)
54. HUMPHREY, J.H.
Antibodyproduction: role of antigen
in its initiation.
Swiss Soc.Allerg.Immunol.Sympos.
Davos 1968
55. HUMPHREY, J.H.;
R.G. WHITE
Kurzes Lehrbuch der Immunologie.
Stuttgart: Thieme 1971
56. IWASAKI, Y.;
K.A. PORTER; J.R. AMEND;
T.L. MARCHIORO;
V. ZÜHLKE; T.E. STARZL
The preparation and testing of hor-
se anti-dog and anti-human anti-
lymphoid plasma or serum and its
protein fractions.
Surg.,Gyn.Obstetr. 124, 1 (1967)
57. JAMES, K.
The preparation and properties of
antilymphocytic sera.
Progr.Surg. 7, 140 (1969)
58. JAMES, K.
Effect of antilymphocytic antibody
on humoral antibody formation.
Fed.Proc. 1, 160 (1970)
59. JAMES, K.;
F. ANDERSON
Effect of anti-rat lymphocyte anti-
body on humoral antibody formation.
Nature 213, 1195 (1967)
60. JAMES, K.;
P.B. MEDAWAR
Characterization of antilymphocy-
tic antibody.
Nature 214, 1052 (1967)
61. JEEJEEBHODY, H.F.
The relationship of lymphopenia pro-
duction and lymphocyte agglutina-
ting and cytotoxic antibody titers
to the immunosuppressive potency of
heterologous antilymphocyte plasma.
Transpl. 4, 1121 (1967)

62. JEEJEEBHOY, H.F.;
A.G. RABBAT;
J. VELA-MARTINZ
Studies on the mode of action of heterologous antilymphocyte plasma (ALP).
Transpl. 6, 765 (1968)
63. KABAT, E.A.;
M.M. MAYER
Experimental immunochemistry.
Springfield: Thomas Publ. 1961
64. LANCE, E.M.
Erasure of immunological memory with anti-lymphocyte serum.
Nature 217, 557 (1968)
65. LANCE, E.M.
The selective action of antilymphocyte serum on recirculating lymphocytes.
Clin.exp.Immun. 6, 789 (1970)
66. LANCE, E.M.
Some comments on the production and purification of ALS with special reference to the use of lymphocyte membranes.
Behring Inst.Mitt. 51, 68 (1972)
67. LANCE, E.M.
The mechanism of action of antilymphocyte serum. Studies of antibody eluat.
J.exp.Med. 130, 49 (1969)
68. LANCE, E.M.;
P.B. MEDAWAR;
S. NEHLSSEN;
S. COOPER; A. GUNN
Synergistic effects of antilymphocyte serum and hydrocortisone on lymphoid populations.
69. LAND, W.
Testung der immunsuppressiven Wirksamkeit von heterologem Antilymphozytenserum auf eine experimentelle Autoimmunerkrankung.
aus: "Autoimmunerkrankungen"
Stuttgart - New York: Schattauer 1969
70. LAND, W.; W. BRENDDEL
Einige Aspekte zur Therapie mit Antilymphozytenglobulin.
Therapiewoche 21, 534 (1971)
71. LAND, W.; E. FRICK;
R. ROSCHER; W. BRENDDEL;
A. BAETHMANN
Wirkung eines heterologen Antilymphozytenserums auf die experimentelle allergische Encephalomyelitis.
Klin.Wschr. 47, 633 (1969)

72. LAND, W.;
R. RUDOLPH; W. BRENDDEL
Ultrastrukturelle Zell- und Organ-
veränderungen nach Verabreichung
eines heterologen Antilymphozyten-
serums bei der Ratte.
Blut 19, 470 (1969)
73. LAND, W.;
R. RUDOLPH; W. BRENDDEL
Stimulating effect of antilympho-
cyte serum on lymphoid cells in
vivo: an electron-microscopic
study.
Surg.Res.Soc.Joint Meeting
London 1969
74. LEVEY, R.H.;
P.B. MEDAWAR
Nature and mode of action of anti-
lymphocytic antiserum.
Proc.Nat.Acad.Sci. 56, 1130 (1966)
75. LEVEY, R.H.;
P.B. MEDAWAR
Further experiments on the action
of antilymphocytic antiserum.
Proc.Nat.Acad.Sci. 58, 470 (1967)
76. MAI, K.; F. BLÄKER
Untersuchungen zur Elimination von
fermentativ desaggregiertem Gamma-
globulin aus dem Blutplasma.
Z.Immun.-Forsch. 142, 173 (1971)
77. MANCINI, G.;
A.O. CARBONARA;
J.F. HEREMANS
Immunochemical quantitation of an-
tigens by single radial immunodif-
fusion.
Immunochem. 2, 235 (1965)
78. METSCHNIKOFF, E.
Etudes sur la résorption des cel-
lules.
Ann.Inst.Pasteur (Paris)
13, 737 (1899)
79. MILLER, A.; D. DeLUCCO;
J. DECKER; R. EZZELL;
E.E. SERCARZ
Specific binding of antigen to
lymphocytes.
Amer.J.Path. 65, 451 (1971)
80. ORR, W.McN.; G. BIRCH;
A.G. DIETHELM;
J.M. DUBERNARD;
J. DUQUELLA;
K.J. GLASSOCK
A study of the potential nephro-
toxicity of heterologous anti-lym-
phocyte serum.
Clin.exp.Immunol. 6, 305 (1970)
81. PALMER, D.L.;
D. RIFKIND; D. BROWN
I-131-labelled colloidal human se-
rum albumin in the study of reticu-
loendothelial system function: the
distribution of free and colloid-
bound radioiodide.
J.Lab.Clin.Med. 68, 972 (1966)

82. PARROT, D.M.V. The response of draining lymphnodes to immunological stimulation in intact and thymectomized animals.
J.Clin.Path.Suppl. 20, 456 (1967)
83. PFEIFER, K.J.;
K.R. SCHMIDT;
Ch. CHAUSSY; J.v. SCHEEL;
H. FIEDLER; C. HAMMER;
U. KLEIN; H.G. HEINZE
Funktionsszintigraphie, Angiographie und Ausscheidungsurographie bei transplantierten Nieren. Xenogene Transplantation im Tierversuch.
Wien: Österr.Röntgen-Kongreß 1973
84. PICHLMAIER, H.;
Th. JUNGINGER
Vergleichende Untersuchungen über lymphozytensenkende Maßnahmen.
Z.ges.exp.Med.exp.Chir. 143, 293 (1966)
85. PICHLMAYR, R.
Antilymphozytenserum: heutiger Stand der Entwicklung.
Schweiz.med.Wschr. 97, 1624 (1967)
86. PICHLMAYR, R.
Die Bedeutung von Antilymphozytenserum für die Immunsuppression.
87. PICHLMAYR, R.
Herstellung und Wirkung heterologer Antihundelymphozytenserum.
Z.ges.exp.Med. 143, 161 (1967)
88. PICHLMAYR, R.;
W. BRENDDEL; G. BECK;
E. SCHMITTDIEL;
G. TIDOW;
I. PICHLMAYR
Herstellung heterologer Immunseren gegen Lymphozyten des Hundes.
Klin.Wschr. 45, 199 (1967)
89. PICHLMAYR, R.;
W. BRENDDEL;
I. PICHLMAYR
Die immunsuppressive Wirkung eines heterologen Antihundelymphozytenserums.
Z.ges.exp.Med.exp.Chir. 143, 313 (1967)
90. PICHLMAYR, R.;
W. BRENDDEL; G. TIDOW
Eigenschaften heterologer Immunseren gegen Hundelymphozyten.
Z.ges.exp.Med.exp.Chir. 143, 300 (1967)
91. PICHLMAYR, R.;
W. BRENDDEL;
K. WONIGEIT
Blutbildveränderungen nach Gabe eines heterologen Antihundelymphozytenserums.
Z.ges.exp.Med.exp.Chir. 143, 305 (1967)

92. PICHLMAYR, R.;
W. BRENDDEL; R. ZENKER
Production and effect of heterologous anti-canine lymphocyte serum. Surgery 61, 774 (1967)
93. PICHLMAYR, R.;
W. LAND; W. BRENDDEL
Entwicklung und Anwendung von heterologen Antilymphozytenseren. Hämatol. Bluttransfus. 8, 189 (1969)
94. PICHLMAYR, R.;
E. WAGNER; K. WONIGEIT;
G. TIDOW;
I. WESTERWELLE
Some aspects in production of antilymphocyte sera. Exc. Med. Int. Congr. Ser. 197, 309 (1969)
95. PISANO, J.C.;
T. PATTERSON;
N.R. DiLUZIO
Depression of phagocytic activity of the reticuloendothelial system by antilymphocytic serum. Pro. Soc. Exptl. Biol. Med. 132, 517 (1969)
96. RAJU, S.; J.B. GROGAN
Heterologous Antilymphocyte serum. Transpl. 8, 695 (1969)
97. REEVE, E.B.;
J.E. ROBERTS
The kinetics of the distribution and breakdown of I-131 albumin in the rabbit. J. Gen. Physiol. 43, 415 (1959)
98. REIF, A.E.
A simple procedure for high-efficiency radioiodination of proteins. J. Nucl. Med. 9, 148 (1968)
99. REIS, H.E.
Untersuchungen zur Aufnahme, Verteilung, Bindung und Elimination von Antilymphozytenglobulin. Essen: Habil.-Schr. 1973
100. ROSSEN, R.D.;
W.T. BUTLER; J.J. NORA;
D.J. FERBACH
Preventing antibody formation to antilymphocytic globulin in man. J. Immunol. 106, 11 (1971)
101. RUDOLPH, R.; W. LAND;
W. BRENDDEL
Ultrastrukturelle Zell- und Organveränderungen nach Verabreichung eines heterologen Antilymphozytenserums (ALS) bei der Ratte. Blut 20, 105 (1970)
102. SCHEEL, J.v.
München: Diss. 1974 (in Vorber.)

103. SHEAGREN, J.N. Antilymphocyte serum blockade of the reticuloendothelial system. Amer.Heart J. 81, 144 (1971)
104. SEIFERT, J.; W. BRENDDEL The effect of antilymphocytic serum on homologous Cr-51-labelled lymphocytes in rats. Transpl. 8, 806 (1969)
105. SEIFERT, J.; W. BRENDDEL; W. LAND; U. HOPF Die Antigenelimination von Pferde-IgG-I-131 bei Ratten, Hunden und Menschen. Ärztl.Forsch. 26, 242 (1972)
106. SEIFERT, J.; W. BRENDDEL; R. PICHLMAYR Normale Verteilung Cr-51 markierter Lymphozyten in der Ratte und ihre Änderung nach Antilymphozyten-serum. Z.ges.exp.Med. 146, 275 (1968)
107. SEIFERT, J.; A. FATEH-MOGHADAM; U. HOPF; W. LAND; W. BRENDDEL; G. LOB Die Antigeneliminationstechnik beim Hund. Z.ges.exp.Med. 156, 157 (1971)
108. SEILER, F.R. Choice of antigen for raising AHLG: Summing up of experiences during several years development of a clinical applicable product. Behring Inst.Mitt. 51, 71 (1972)
109. SHEIL, S.G.R. Relative toxicity of ALG of horse and goat. Behring Inst.Mitt. 51, 61 (1972)
110. SHEIL, A.G.R.; J.F. ROGERS Antilymphocyte serum: a review with report of the current clinical situation in Australia. Med.J.Australia 1, 1370 (1969)
111. STARZL, T.E.; T.L. MARCHIORO; K.A. PORTER; Y. IWASAKI; C. CERRILLIC The use of heterologous lymphoid agents in canine renal and liver homotransplantation and in human renal transplantation. Surg.Gyn.Obstetr. 124, 301 (1967)
112. THIERFELDER, St.; R. PICHLMAYR Einfluß heterologer Antikörper auf die elektrophoretische Wandergeschwindigkeit von Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten. Klin.Wschr. 10, 528 (1967)

113. TREPEL, F.;
R. PICHLMAYR;
J. KIMURA; W. BRENDL;
H. BEGEMANN
Therapieversuche mit Antilymphzy-
tenserum bei Autoaggressionskrank-
heiten des Menschen.
klin.Wschr. 16, 856 (1968)
114. TURK, J.L.;
D.A. WILLOUGHBY
Central and peripheral effects of
antilymphocyte sera.
Lancet I, 249 (1967)
115. TURSI, A.;
M.F. GREAVES;
J.L.P. PLAYFAIR;
G. TORRIGIANI;
I.M. ROTTI
Effect of anti-lymphocyte globulin
treatment on the response of lym-
phocytes to phythaemagglutinin.
Exc.Med.Int.Congr.Ser.
197, 320 (1969)
116. VANBEKKUM, D.W.
ALG in prevention of acute graft-
versus-host-reactions following
allogeneic bone marrow transplan-
tation.
Behring Inst.Mitt. 51, 159 (1972)
117. WALDMANN, T.A.;
W. STROBER; R.M. BLAESL
Metabolism of immunoglobulins.
Progr.Immun. , 893 (1971)
118. WEICHSELBAUM, T.E.
An accurate and rapid method for
determination of proteins in small
amounts of blood serum and plas-
ma.
Amer.J.clin.Path. 10, 40 (1946)
119. WERTHAMER, S.;
C. HICKS; L. AMARAL
Proteinsynthesis in human leucocy-
tes and lymphocytes.
I. Effect of steroids and sterols.
Blood 34, 348 (1969)
120. WOODRUFF, M.F.A.
Antilymphocytic serum: summary and
further observations.
Transpl. 5, 1127 (1967)
121. WOODRUFF, M.F.A.;
B. REID; K. JAMES
Effect of antilymphocytic antibody
and antibody fragments on human
lymphocytes in vitro.
Nature 215, 591 (1967)
122. ZAPPACAPSTA, S.;
G. ROSSI
An improved method for radioiodina-
tion of gG-immunoglobulin.
Immunochem. 4, 122 (1967)

G. ANHANG

Danksagung

Herrn Professor Dr.Dr. W. Brendel danke ich für die Überlassung des Themas sowie für seine Ratschläge im Verlaufe der Arbeit.

Für zahlreiche kritische Anregungen gilt mein besonderer Dank Herrn PD Dr. K. Meßmer.

An der Durchführung bzw. der Auswertung der Versuche waren beteiligt: Fräulein G. Brons, Fräulein G. Höbel, Fräulein J. Krumbach sowie die Herren O. Frisch, E. Roglmeier, Dr. J. Seifert und Dr. U. v. Specht.

Bei ihnen bedanke ich mich für ihre Mithilfe.

LEBENS LAUF

Roman Alexander Zink, Sohn des Facharztes Dr.Dr. Wilhelm Zink und seiner Ehefrau Marianne, geb. Janker, am 14. November 1946 in München geboren.

Ab 1953 Besuch der Volksschule an der Leipzigerstraße, anschließend des Wittelsbacher Gymnasiums, ebenfalls in München.

1966 im Wintersemester Beginn des Medizinstudiums an der Ludwig Maximilians-Universität in München; Sommersemester 1967 Naturwissenschaftliche Vorprüfung; Wintersemester 1968 Ärztliche Vorprüfung; Sommersemester 1972 Staatsexamen.
August 1972 Beginn der Dissertation.

1973 Medizinalassistent in München am Institut für chirurgische Forschung, der Chirurgischen Universitätsklinik sowie am Pathologischen Institut der Universität; 1974 am städtischen Krankenhaus Oberföhring.

Ab Mai 1974 Assistenzarzt am Deutschen Herzzentrum des Freistaates Bayern in München.

Approbation im Juni 1974.

